

SÉRIE A, N° 1125

N° D'ORDRE :

1976

THÈSES

PRÉSENTÉES

À LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

E. ELION

Ingénieur-Chimiste de l'Université Technique de Delft (Hollande)

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LE RÔLE DU PHOSPHORE DANS LA VIE DE
LA LEVURE ET DANS LA FERMENTATION ALCOOLIQUE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 15 Décembre 1927, devant la Commission d'Examen.

MM. P. PORTIER	} Examinateurs	Président
H. MOUTON		
A. FERNBACH		

PARIS (V^e)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49



Digitized by the Internet Archive
in 2026

SÉRIE A, N° 1125

N° D'ORDRE :

1976

THÈSES

PRÉSENTÉES

À LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

E. ELION

Ingénieur-Chimiste de l'Université Technique de Delft (Hollande)

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LE RÔLE DU PHOSPHORE DANS LA VIE DE
LA LEVURE ET DANS LA FERMENTATION ALCOOLIQUE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 15 Décembre 1927, devant la Commission d'Examen

MM. P. PORTIER .	<i>Président</i>
H. MOUTON .	} <i>Examineurs</i>
A. FERNBACH	

PARIS (V°)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49

1927

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyens honoraires P. APPELL, M. MOLLIARD.

Prof. honoraires

P. PUISEUX.
V. BOUSSINESQ.
A. JOANNIS.
H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
G. SAGNAC.



Émile PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.
G. KÖNIGS Mécanique physique et expérimentale.
E. GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
P. JANET Electrotechnique générale.
F. WALLERANT Minéralogie.
H. ANDOYER Astronomie.
P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
Gabriel BERTRAND Chimie biologique
M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
M. CAULLERY Zoologie (Évolution des êtres organisés).
C. CHABRIÉ Chimie appliquée.
G. URBAIN Chimie minérale.
Émile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
L. MARCHIS Aviation.
Jean PERRIN Chimie physique.
Rémy PERRIER Zoologie (Enseignement P. C. N.).
H. ABRAHAM Physique.
M. MOLLIARD Physiologie végétale.
E. CARTAN Géométrie supérieure.
L. LAPICQUE Physiologie générale.
E. VESSIOT Théorie des groupes et calcul des variations.
A. COTTON Physique générale.
J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY Physique.
Charles PÉREZ Zoologie.
Léon BERTRAND Géologie appliquée et géologie régionale.
R. LESPIEAU Théories chimiques.
E. RABAUD Biologie expérimentale.
P. PORTIER Physiologie comparée.
E. BLAISE Chimie organique.
P.-A. DANGEARD Botanique.
P. MONTEL Mécanique rationnelle.
P. WINTREBERT Anatomie et histologie comparées.
O. DUBOSCQ Biologie maritime.
G. JULIA Mathématiques générales.
A. JOB Chimie générale.
A. MAILHE Étude des combustibles.
L. LUTAUD Géographie physique.
Eugène BLOCH Physique théorique et physique céleste.
HENRI VILLAT Mécanique des fluides et applications.
N... Géologie.

E. HÉROUARD Zoologie.
E. PÉCHARD Chimie (Enseig^t P. C. N.).
V. AUGER Chimie analytique.
M. GUICHARD Chimie minérale.
A. GUILLET Physique
C. MAUGUIN Minéralogie.
L. BLARINGHEM Botanique.
A. MICHEL-LÉVY Pétrographie.
A. DEREIMS Géologie.
R. DONGIER Physique du globe.
A. DENJOY Calcul diff. et intégral.
H. BÉNARD Physique (P. C. N.).

E. DARMOIS Physique.
G. BRUHAT Physique.
H. MOUTON Chimie physique.
L. JOLEAUD Paléontologie.
M. JAVILLIER Chimie biologique.
A. DUFOUR Physique (P. C. N.).
F. PICARD Zoologie (Évolution des
êtres organisés).
ROBERT-LÉVY Zoologie.
L. DUNOYER Optique appliquée.
A. GUILLIERMOND Botanique (P. C. N.).
A. DEBIERNE Radioactivité.

Secrétaire Daniel TOMBECK.

A MONSIEUR LE DOCTEUR ÉMILE ROUX

Membre de l'Institut et de l'Académie de Médecine
Directeur de l'Institut Pasteur

A MONSIEUR AUGUSTE FERNBACH

Professeur à l'Institut Pasteur
Professeur honoraire à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris

A MONSIEUR M. SCHOEN

Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur

Hommages de respectueuse reconnaissance

A MES PARENTS

Hommages de profonde affection

PREMIÈRE THÈSE

RECHERCHES SUR LE RÔLE DU PHOSPHORE
DANS LA VIE DE LA LEVURE
ET DANS LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

INTRODUCTION

Le rôle essentiel que le phosphore joue dans les phénomènes biologiques est un fait connu depuis très longtemps. Dès 1719 Joh. Th. Hensing (1) a reconnu la présence de cet élément dans la substance cérébrale, de telle sorte qu'on a pu dire que le phosphore, élément « porte lumière », comme son nom l'indique, est peut-être aussi l'élément « porte vie ».

Depuis cette époque, des travaux innombrables (2) ont été consacrés à cette question et l'on sait actuellement que les phosphates font partie intégrante de la molécule de certaines protides et même de certains glucides complexes, tels que l'amidon (*).

(1) JOH. TH. HENSING. — *Examen chemicum Cerebri, ex eodemque phosphorus singularis omnia inflammans*. — Giessae, 1719. Thèse de doctorat. Voir : J. LUDWIG W. THUDICHUM. — *Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere*. — Tübingen, 1901.

(2) E. B. FORBES et M. HELEN KEITH. — *A Review of the Literature of Phosphorus Compounds in Animal Metabolism*. — Ohio Agricultural Experiment Station, Technical Series, Bulletin N° 5, Wooster, Ohio, U. S. A., 1914.

(*) A. Fernbach (3) a signalé que le phosphore fait partie intégrante du

Le rôle important que le phosphore et les matières minérales en général jouent dans la vie végétale est reconnu à l'heure actuelle. Il n'en était nullement ainsi il y a environ un siècle et, quoique certains auteurs avaient déjà signalé l'importance des matières minérales, c'est seulement depuis l'apparition du livre de Justus von Liebig (6) en 1840 qu'on a reconnu la nécessité absolue des matières minérales pour le développement des plantes.

Un exposé de l'histoire des doctrines agricoles est donné par L. Grandeau (7) et il est intéressant d'en citer ici quelques passages.

.....« A une époque encore peu éloignée de nous, on considérait l'*humus*, c'est-à-dire cette substance noirâtre, partie constitutive du terreau résultant de la décomposition des débris végétaux dans le sol, comme l'élément fertilisateur par excellence. On pensait que les *détritus organiques*, dissous par les eaux pluviales, étaient absorbés par les racines et amenés par cette voie aux tissus vivants, dont ils constituaient exclusivement la nourriture. D'après cette hypothèse, les plantes étaient censées vivre à la manière des animaux, c'est-à-dire par l'absorption d'aliments organiques d'une composition chimique plus ou moins analogue à celle de leurs tissus. Quant aux cendres, c'est-à-dire aux substances minérales qu'on y rencontrait, on leur attribuait peu d'importance en raison de leur faible quantité ; on les

granule d'amidon. On ne peut, en effet, en débarrasser la fécule par des lavages, soit avec l'eau, soit avec des acides étendus. D'après G. Malfitano (4) la molécule d'amidon est formée de complexes, qui contiennent non seulement de groupements glucidiques $C^6H^{10}O^6$, mais aussi de groupements phosphorés, opinion également défendue par M. Samec (5).

(3) A. FERNBACH. — *C. R. Ac. des Sciences*, **138**, 428 ; 1904.

(4) G. MALFITANO. — *C. R. Ac. des Sciences*, **143**, 400 ; 1906.

(5) M. SAMEC. — *Kolloidchem. Beihefte*, **4**, 132 ; 1912/13. — *Ibidem*, **5**, 141 ; 1913/14. — *Ibidem*, **6**, 23 ; 1914.

(6) J. VON LIEBIG. — *Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Agriculturnchemie und Physiologie*. — Braunschweig, 1840.

(7) L. GRANDEAU. — *Chimie et physiologie appliquées à l'agriculture et à la sylviculture*. — Paris, 1879.

regardait comme un accident, et l'on allait même jusqu'à dire qu'elles ne provenaient nullement du sol, le végétal seul ayant la puissance de les créer de toutes pièces. De là cette double croyance que les principes minéraux étaient inutiles, et que plus une terre est riche en *humus*, plus elle est fertile. »

.....« Fondée sur les belles recherches de Th. de Saussure sur le terreau, appuyée sur des faits vrais en partie, mais trop incomplètement observés, mise en honneur par A. D. Thaër... cette théorie, poussée jusqu'à ses dernières limites, menaçait les nations modernes du sort de Rome et de la Grèce. Le sol de l'Europe et du Nouveau-Monde allaient vers un épuisement complet, sans la réaction amenée dans les esprits par le génie de Liebig. »

Déjà bien longtemps avant Liebig quelques-uns avaient compris l'importance des matières minérales pour la nutrition des plantes, mais leurs idées avaient été oubliées complètement et c'est ainsi que... « les propositions avancées par Liebig en 1840 constituaient à la fois une grande nouveauté scientifique et une véritable révolution agronomique, tant elles venaient heurter de front les convictions les mieux assises à ce moment ».

.....« Vers le milieu du xvi^e siècle, un homme de génie, aussi grand par le caractère que par l'intelligence, Bernard Palissy, résumait, dans des traités célèbres mais trop peu lus de nos jours, l'ensemble de ses réflexions sur les sciences naturelles ; c'est à ces chefs-d'œuvre qu'il faut remonter pour rencontrer la première notion précise sur le rôle des matières minérales dans la végétation et la première explication rationnelle de la véritable cause des propriétés fertilisantes du fumier. On ne saurait se défendre d'un profond sentiment d'admiration pour la sagacité de ce grand esprit en lisant les quelques fragments suivants empruntés textuellement aux *Traité des sels divers et de l'agriculture*, publiés en 1563, fragments que l'on croirait écrits par un agronome

contemporain. A la page 207 de l'édition des œuvres de Palissy (8) on lit ce qui suit :

« Le sel (*) fait végéter et croître toutes semences. Et combien qu'il y ait peu de personnes qui sachent la cause pourquoi le fumier sert aux semences et qui l'apportent seulement par coutume et non par philosophie ; si est-ce que le fumier, que l'on porte aux champs ne servirait de rien, *si ce n'était le sel que les pailles et foins y ont laissé en se pourrissant*. Par quoi ceux qui laissent leurs fumiers à la merci des pluies sont fort mauvais ménagers et n'ont guère de philosophie acquise ni naturelle ; car les pluies qui tombent sur les fumiers, décollant en quelque vallée, emmènent avec elles le sel dudit fumier qui se sera dissous à l'humidité, et par ce moyen il (le fumier) *ne servira plus de rien étant porté aux champs*. La chose est assez aisée à croire ; et, si tu ne le veux croire, regarde quand le laboureur aura porté du fumier en son champ, il le mettra, en le déchargeant, par petites piles, et quelques jours après il le viendra épandre parmi le champ et ne laissera rien à l'endroit desdites piles. Toutefois après qu'un tel champ sera semé de blé, tu trouveras que le blé sera plus beau, plus vert et plus épais à l'endroit où lesdites piles auront reposé, que non pas en un autre lieu, et cela advient parce que les pluies qui sont tombées sur les pilons ont pris le sel en passant au travers et descendant en terre ; par là, tu peux connaître que ce n'est pas *le fumier qui est la cause de la génération ains (mais) le sel que les semences avaient pris en la terre*. Encore que j'aie déduit autrefois ce propos des fumiers en un petit livre que je t'ai dit que je fis imprimer dès les premiers troubles, si est-ce qu'il me semble qu'il n'est point superflu en cet endroit. Car, par là,

(8) BERNARD PALISSY. — *Œuvres revues sur les exemplaires de la Bibliothèque du Roi*, par FOUJAS DE SAINT-FOND et GOBET. — In-4°, Paris, Ruault, 1777. D'après L. GRANDEAU, *loc. cit.* (7).

(*) Par le terme sel Palissy entendait évidemment parler de matière minérale, comme il suit d'autres passages.

tu entendras aussi la cause pourquoi tous excréments peuvent aider à la génération des semences. Je dis tous excréments, soit de l'homme ou de la bête. C'est toujours confirmation d'un propos que j'ai répété plusieurs fois en parlant de l'alchimie, que quand Dieu forma la terre, il la remplit de toutes espèces de semences ; mais si quelqu'un sème un champ plusieurs années sans le fumer, les semences *tireront le sel de la terre* pour leur accroissement, et *la terre par ce moyen se trouvera dénuée de sel* et ne pourra plus produire ; par quoi la faudra fumer ou la laisser reposer quelques années, afin qu'elle reprenne quelque salsitude provenant des pluies ou nuées. Car toutes terres sont terres ; mais elles sont bien plus salées les unes que les autres. Je ne parle pas d'un sel commun seulement, *mais je parle des sels végétatifs.* » »

Les passages des travaux de Bernard Palissy, cités ci-dessus, nous montrent clairement que cet auteur avait déjà une idée très nette de l'importance des substances minérales pour la nutrition des végétaux. Il attribuait déjà la valeur de l'humus aux sels que cette substance contient.

Ces idées, très justes, de Bernard Palissy, sont restées, on l'a déjà dit, inaperçues pendant des siècles.

Lavoisier aussi a exprimé des pensées, qui sont à l'heure actuelle encore d'une justesse remarquable. C'est J. B. Dumas, qui a retrouvé parmi des papiers de Lavoisier, une feuille, écrite à la fin de 1792 ou au commencement de 1793, travail qui est resté inédit jusqu'à 1860. En voici quelques passages (9).

Pièce sans titre de la main de Lavoisier.

« Les végétaux puisent dans l'air qui les environne, dans l'eau et, en général, dans le règne minéral, les matériaux nécessaires à leur organisation.

Les animaux se nourrissent ou de végétaux ou

(9) J. B. DUMAS. — *Leçon professée à la Société chimique en 1860*, p. 294, Paris, Hachette, 1861. (D'après L. GRANDEAU, *loc. cit.* (7).

d'autres animaux qui ont été eux-mêmes nourris de végétaux, en sorte que les matières qui les forment sont toujours, en dernier résultat, tirées de l'air et du règne minéral.

Enfin la fermentation, la putréfaction et la combustion rendent perpétuellement à l'air de l'atmosphère et au règne minéral les principes que les végétaux et les animaux en ont empruntés.

Par quels procédés la nature opère-t-elle cette merveilleuse circulation entre les deux règnes ? Comment parvient-elle à former des substances combustibles, fermentescibles et putrescibles avec des combinaisons qui n'avaient aucune de ces propriétés ? Ce sont des mystères impénétrables. On entrevoit cependant que, puisque la combustion et la putréfaction sont les moyens que la nature emploie pour rendre au règne minéral les matériaux qu'elle en a tirés pour former des végétaux et des animaux, la végétation et l'animalisation doivent être des opérations inverses de la combustion et de la putréfaction... »»

Il convient de citer encore les recherches de Th. de Saussure sur les matières minérales, contenues dans le sol et sur leur rapport avec les plantes. A cette époque (1804), où l'on considérait la présence des matières minérales comme accidentelle, de Saussure a montré qu'il n'en était nullement ainsi. Mais il n'a pas eu l'idée de restituer au sol les sels qui en sont retirés, ainsi que Palissy et Lavoisier l'avaient déjà indiqué. D'ailleurs, Th. de Saussure était un défenseur ardent de la théorie de l'humus.

Enfin, en 1840, Justus von Liebig publia à Brunswick son livre « La chimie organique appliquée à l'agriculture et à la physiologie ». Ce livre, dans lequel Liebig défend sa thèse : *C'est la nature inorganique exclusivement qui offre aux végétaux leurs premières sources d'alimentation*, a provoqué toute une révolution parmi les savants et les praticiens, qui, à cette époque, attribuaient à l'humus seul la fertilité des sols.

C'est donc Liebig qui a contribué principalement à la fondation de la *théorie minérale* de la nutrition des végétaux. Il a montré, en effet, que les végétaux prennent dans le sol différents éléments minéraux et qu'il faut restituer à la terre les mêmes éléments et dans les proportions où les plantes les ont absorbés, pour en conserver la fertilité. L'humus seul ne suffit pas, car il ne contient que certains éléments minéraux et pas tous ceux qui ont été absorbés par les plantes. D'ailleurs certaines plantes ont besoin d'éléments, qui peuvent varier d'une espèce à l'autre.

Nous savons à l'heure actuelle quelles ont été les conséquences des travaux de l'école de Liebig et personne ne conteste plus l'importance primordiale des matières minérales dans la nutrition des végétaux.

Au cours de ses recherches, Liebig a formulé la loi qu'on désigne comme la *loi du minimum* (10, 11). On sait qu'il existe une relation entre les éléments minéraux indispensables au développement des végétaux. Si un de ces éléments n'est pas présent en quantité suffisante, le développement de la plante ne peut se faire normalement, même si tous les autres éléments indispensables sont présents en quantités abondantes.

Dans la 7^e édition de son livre « *Agrikulturchemie* », paru à Brunswick en 1862 (12), Liebig dit à la page 223 du second volume :

... « Chaque champ contient un maximum d'une ou de plusieurs matières nutritives et un minimum d'une ou de plusieurs autres. Les rendements du champ sont en rapport avec ce minimum, qu'il soit formé par de

(10) J. VON LIEBIG. — *Die Grundsätze der Agrikulturchemie*. — Braunschweig, 1855.

(11) J. VON LIEBIG. — *Nachtrag zu den Grundsätzen der Agrikulturchemie*. — Braunschweig, 1855.

D'après M. HOFFMANN. — *Das Gesetz vom Minimum*. — Berlin, Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft, 1913.

(12) J. VON LIEBIG. — *Die Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie, Zweiter Teil : Die Naturgesetze des Feldbaues*. — Braunschweig, 1862.

la chaux, de la potasse, de l'azote, de l'acide phosphorique, de la magnésie ou par toute autre substance nutritive. C'est ce minimum, qui détermine la quantité et la durée des récoltes.

....Pour rendre la fertilité aux champs, épuisés par les cultures précédentes, il est indifférent d'ajouter les matières nutritives que le sol contient en excès ; une action favorable est exercée exclusivement par l'addition de substances qui n'existent dans le sol qu'en quantité réduite et insuffisante. »

On peut donner la définition suivante de la loi du minimum, telle que Liebig l'a formulée (13) :

« La récolte d'une plante dépend de la matière nutritive, qui se trouve dans le sol en quantité relativement petite, c'est-à-dire qui se trouve au « minimum » (*).

Les vues de Liebig sur la nutrition minérale des végétaux et sa loi du minimum, qui en découle, sont d'une grande importance aussi pour l'étude des microorganismes. Pour bien comprendre la portée de ces idées, on n'a qu'à s'adresser aux travaux classiques de Jules Raulin (16), exposés dans sa thèse, devenue célèbre en biologie. Raulin y décrit ses recherches chimiques sur le développement de l'*Aspergillus niger* dans des milieux artificiels et il étudie avec beaucoup de détails l'influence d'un grand nombre d'éléments sur le développement de cette mucédinée, tout en ne changeant qu'un seul facteur à la fois.

En ce qui concerne le rôle du phosphore, Raulin donne des chiffres, qui montrent l'influence capitale que les phosphates exercent sur le développement de l'*Aspergillus niger*. On se rappelle que, dans toutes ses

(13) E. A. MITSCHERLICH. — *Landwirtsch. Jahrbücher*, **38**, 537 ; 1909.

(*) D'après Adolf Mayer (14) des idées analogues à celles que Liebig a formulé dans la loi du minimum, se trouvent déjà dans un livre, publié en 1839 par Carl Sprengel (15).

(14) ADOLF MAYER. — *Landwirtsch. Versuchsstationen*, **78**, 115 ; 1912.

(15) CARL SPRENGEL. — *Lehre vom Dünger*. — 1839.

(16) J. RAULIN. — *Etudes chimiques sur la végétation*. — Paris, 1870. Nouvelle édition conforme à l'original, Paris, Masson et C^{ie}, 1905.

expériences, Raulin a pris comme point de départ une solution, composée de sucre, d'acide tartrique et de matières minérales en proportions déterminées, un milieu-type qu'aucune addition nouvelle ne pouvait améliorer. Il a ensuite étudié l'influence qu'exerçait sur le poids de la récolte la suppression de certains éléments dans le milieu-type. Le rapport entre le poids de la récolte totale dans le milieu-type et de celui qu'on obtient dans un milieu sans phosphate était 182,0. C'est ce que Raulin appelle la « valeur alimentaire ». [Pour la potasse cette valeur est 25,0, pour la magnésie 91,0 et pour l'acide sulfurique 15,4.]

Si l'on calcule d'autre part l'« utilité spécifique » de chaque élément, c'est-à-dire le rapport entre le déficit de récolte et la quantité de l'élément étudié on trouve pour le phosphore le chiffre 157.

Lorsqu'on s'adresse à la levure, le problème du métabolisme minéral devient plus compliqué (17). Il faut ici distinguer, en effet, entre la levure considérée comme végétal et la levure agissant comme agent de la fermentation alcoolique. Seule la levure envisagée comme végétal est comparable à l'*Aspergillus niger*.

C'est Pasteur, qui a constaté pour la première fois, que la présence des cendres de levure était indispensable pour la culture de cet organisme. Adolf Mayer (18, 19) s'est occupé plus spécialement de la nutrition minérale de la levure. Mais le milieu-type, employé par cet auteur, n'était pas un liquide très favorable pour le développement de la levure, comme l'est le milieu de Raulin pour la croissance de l'*Aspergillus niger*, de telle sorte qu'il y a eu souvent développement de bactéries, qui étaient mieux nourries par son milieu de culture que la levure elle-même.

Cependant les recherches de A. Mayer ont déjà fait

(17) E. DUCLAUX. — *Traité de Microbiologie*, tome III. — Paris, 1900.

(18) ADOLF MAYER. — *Untersuchungen über die alkoholische Gärung*. — Heidelberg, 1869.

(19) ADOLF MAYER. — *Landwirtsch. Versuchsstationen*, 11, 443 ; 1869.

ressortir, que le phosphate de potassium joue un rôle prépondérant dans la nutrition minérale de la levure. (Voir également 20.)

Dans les expériences de A. Mayer deux phénomènes se superposent : le développement de la levure et la fermentation, car cet auteur procédait par desensemencements faibles. H. Elion (21) a opéré, au contraire, avec des quantités plus grandes de levure (4 à 5 grammes dans 100 cm³ de liquide), de telle sorte que, dans ses essais, la fermentation commençait de suite. L'effet produit par l'addition de sels s'exerçait ainsi sur la vitesse de la fermentation et non pas sur la multiplication. En ajoutant un mélange de phosphates monopotassique et diammonique, H. Elion a observé, que, pendant les deux premières heures de la fermentation, la quantité d'acide carbonique dégagé était bien plus élevée que dans les cas où il n'ajoutait pas ces sels. L'augmentation, variable d'une levure à l'autre, a atteint, pour une levure pressée de grains, 62,7 %.

Les phosphates monopotassique et diammonique exercent donc une certaine action stimulante sur la fermentation par la levure vivante, constatation faite par H. Elion dès 1893.

Après la découverte, en 1897, par E. Buchner (22) de la zymase alcoolique, une action stimulante importante par les phosphates sur les fermentations par le suc de levure (« Presssaft ») a été observée par A. Wróblewski (23) et par Buchner et Hahn (24).

Depuis, l'action des phosphates sur les fermentations par les sucs de levure ou par les levures tuées (tels que la zymine par exemple), a été l'objet de nombreuses

(20) ADOLF MAYER. — *Lehrbuch der Agrikulturchemie. II Teil, Die Gärungschemie*, 4^e Aufl. — Heidelberg, 1895.

(21) H. ELION. — *Centralbl. f. Bakteriöl. und Parasitenk.*, **14**, 53 et 97 ; 1893.

(22) E. BUCHNER. — *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, **30**, 117 ; 1897.

(23) A. WRÓBLEWSKI. — *Journ. f. prakt. Chem.*, (2), **64**, 1 ; 1901.

(24) E. BUCHNER, H. BUCHNER et M. HAHN. — *Die Zymasegärung*. — München et Berlin, 1903.

recherches. On connaît les observations de L. Iwanoff et de A. Harden et W. J. Young, faites indépendamment en 1905. Ces auteurs ont observé que si l'on fait fermenter un mélange de sucre et de phosphates par le suc de macération ou par le suc de levure, et si l'on détermine la quantité de phosphate à divers stades de la fermentation, on constate que le taux de ce sel, sous sa forme *minérale*, diminue au fur et à mesure que la fermentation progresse, pour disparaître entièrement à un moment donné. C'est que le phosphate minéral subit une transformation profonde ; il donne naissance à la production d'une combinaison organique complexe, dans laquelle il ne peut plus être mis en évidence à l'aide des réactifs habituels des phosphates.

Il ne peut être ici question de tous les faits importants, mis en évidence depuis la découverte de Harden. On en trouvera un exposé détaillé dans la monographie de Harden (25), dans celle de M. Schoen (26) et dans un article de C. Neuberg (27).

Retenons ici seulement le fait, constaté par Harden et Young, que dans les fermentations déterminées par le suc de levure et par les préparations de levure sèche, les phosphates interviennent quantitativement : la quantité d'acide carbonique dégagé augmente proportionnellement à la dose de phosphate ajouté.

Le phosphore intervient-il de la même façon dans les fermentations provoquées par la levure vivante ? En d'autres termes, dans une fermentation, mise en route par une grande quantité de levure, la vitesse de la fermentation est-elle aussi en rapport avec la quantité de phosphate présente dans le milieu ?

D'autre part, il faut se demander aussi si la phospho-

(25) A. HARDEN. — *Alcoholic Fermentation*. — London, 1923.

(26) M. SCHOEN. — *Le problème des fermentations, les faits et les hypothèses*. — Monographies de l'Institut Pasteur, Paris, 1926.

(27) C. OPPENHEIMER. — *Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere*, 2^e Aufl., Bd II, S. 442. — Jena, 1924.

rylisation (*) est réellement liée à la fermentation. L'étude des sucres non fermentescibles pourrait fournir des indications utiles à ce sujet. En effet, la fermentescibilité des sucres dépend, on le sait, de leur configuration stéréoisomérique. La phosphorylation est-elle liée à la même configuration stéréoisomérique que la fermentation ? (**) En d'autres termes, les sucres non fermentescibles peuvent-ils donner naissance à la production des éthers phosphoriques sous l'influence de l'action de préparations actives de levure ?

*
* *

On voit tout l'intérêt que présentent les questions que nous avons esquissées dans l'aperçu rapide qui précède. Quelques-unes de ces questions ont fait l'objet de nos recherches expérimentales. Nous avons recherché d'abord le rapport qui existe entre le développement de la levure et l'absorption de phosphore par cet organisme. A cet effet, nous avons étudié la marche de l'absorption du phosphore par diverses levures, dans divers milieux, en variant les conditions de culture.

Après avoir vérifié le fait, déjà signalé, que la levure vivante ne provoque pas de phosphorylation, nous avons recherché si les sucres non fermentescibles peuvent donner naissance à la production des éthers phosphoriques, sous l'influence de l'action de préparations actives de levure.

La description détaillée de nos recherches forme le

(*) Nous nous sommes servi du terme « phosphorylation », terme certainement peu élégant, mais beaucoup employé actuellement dans les publications des langues allemande et anglaise, pour désigner l'éthérification phosphorée des hexoses, qui donne naissance à la production des combinaisons organiques complexes.

(**) A. J. Kluyver et A. P. Struyck (28) ont développé récemment une nouvelle théorie sur le rôle des phosphates dans la dégradation des hexoses, en rapport avec leur configuration stéréoisomérique.

(28) A. J. KLUYVER et A. P. STRUYCK. — *Verslagen Kon. Akad. van Wetensch. Amsterdam* (Afd. Natuurk.), **35**, 177 ; 1926.

sujet de la thèse, que nous avons l'honneur de présenter ici à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris.

* * *

Je suis heureux de pouvoir exprimer ici ma grande reconnaissance aux Professeurs de l'Université Technique de Delft (Hollande), qui ont contribué à mon éducation scientifique, et plus spécialement aux Professeurs de la Section de Chimie de cette Université. C'est M. le Professeur Dr A. J. Kluiver, de l'Université Technique de Delft, qui m'a initié à la science des infiniment petits et je tiens à lui exprimer ici ma vive gratitude pour l'intérêt constant qu'il a bien voulu me témoigner.

La Société Néerlandaise « Fondation Pasteur » m'a fait l'honneur de m'offrir, pendant deux années consécutives, une des deux places, que l'Institut Pasteur met gracieusement à sa disposition. Je ne veux pas manquer d'exprimer ici ma vive reconnaissance à la Société Néerlandaise « Fondation Pasteur », pour m'avoir mis ainsi dans la possibilité d'entreprendre les recherches, qui forment le sujet de la présente thèse, et que j'ai pu effectuer dans le service des fermentations de l'Institut Pasteur à Paris, sous la direction de M. Auguste Fernbach, Professeur à l'Institut Pasteur, Professeur honoraire à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris.

J'adresse l'expression de ma plus vive reconnaissance et le témoignage de mes remerciements les plus sincères à l'Institut Pasteur de Paris pour la touchante hospitalité que j'ai trouvée dans ses célèbres laboratoires et c'est plus spécialement M. A. Fernbach que je prie de bien vouloir accepter mes chaleureux remerciements pour l'accueil bienveillant qu'il a bien voulu me réserver dans son laboratoire.

Je dois également une grande reconnaissance à M. Schoen, chef de laboratoire à l'Institut Pasteur de Paris, pour les encouragements qu'il m'a prodigués avec une extrême bienveillance.

CHAPITRE II

LES MÉTHODES DE DOSAGE

I. — *Le dosage du phosphore*

Pour les recherches que nous avons entreprises, il fallait disposer d'une méthode rapide et suffisamment exacte pour le dosage du phosphore. Les méthodes analytiques habituelles ne permettant pas de faire un nombre d'analyses assez grand dans peu de temps, nous avons choisi le dosage colorimétrique du phosphore.

Richard D. Bell et Edward A. Doisy (29) ont décrit une méthode pour le dosage colorimétrique du phosphore dans l'urine et le sang, qui est basée sur le fait que certaines substances réductrices ont le pouvoir de réduire l'acide phosphomolybdique, sans s'attaquer à l'acide molybdique libre, qui se trouve en excès dans le liquide. En se servant de cette réduction élective, on peut doser par voie colorimétrique le molybdène, lorsqu'il se trouve à l'état d'acide phosphomolybdique, en présence d'un excès d'acide molybdique.

Les auteurs ont choisi l'hydroquinone comme réducteur. Le produit de la réduction de l'acide phosphomolybdique se présente avec une coloration bleue. La colo-

(29) RICHARD D. BELL et EDWARD A. DOISY. — *Journ. biol. Chem.*, **44**, 55 ; 1920.

ration verte, causée par la présence de quinone dans les cas où l'hydroquinone est décomposée, est éliminée par l'addition de sulfite de soude.

Le liquide à analyser est additionné d'une certaine quantité de molybdate d'ammonium, en solution dans de l'acide sulfurique, ensuite d'hydroquinone et enfin d'un mélange de carbonate et de sulfite de soude. L'alcali sert pour intensifier la coloration bleue. Une solution de phosphate de potassium d'une concentration connue sert de témoin. Cette solution doit être traitée de la même manière que la solution à analyser, la coloration n'étant pas d'une stabilité parfaite.

Dans les analyses du sang les substances protéiques sont précipitées préalablement par l'acide trichloracétique.

La méthode de Bell et Doisy a été modifiée par A. P. Briggs. Dans la première de ses deux communications (30) Briggs indique que la coloration alcaline bleue de Bell et Doisy change assez rapidement. Cependant dans une solution acide il se produit une coloration verte stable, qui est proportionnelle au phosphore présent. Bell et Doisy n'utilisent pas cette coloration parce qu'en ajoutant la solution acide de molybdate ils ont obtenu un liquide trouble. Briggs, en modifiant la précipitation par l'acide trichloracétique, a réussi à éliminer cette cause d'erreur. Ainsi on peut se servir des solutions acides pour la colorimétrie.

Briggs a observé que la coloration verte, en solution acide, peut être changée en bleu plus intense, en ajoutant du sulfite de soude. Dans sa première note il propose d'ajouter, après la précipitation par l'acide trichloracétique, suivie d'une filtration, la solution de molybdate d'ammonium, ensuite du sulfite et après de l'hydroquinone. La coloration n'est comparée avec celle du témoin qu'au bout d'une demi-heure, à l'aide d'un colorimètre.

(30) A. P. BRIGGS. — *Journ. biol. Chem.*, **53**, 13 ; 1922.

Dans sa seconde note (31), Briggs apporte encore quelques modifications, afin d'obtenir une coloration plus intense, modifications qui portent sur les quantités des solutions à employer et sur l'ordre dans lequel les réactifs sont ajoutés. Ainsi, d'après cette modification, le molybdate est ajouté d'abord, puis l'hydroquinone et enfin seulement le sulfite de soude, qui change la coloration verte en bleue.

Comme nos liquides de culture ne contiennent des matières protéiques qu'en quantités négligeables, nous avons supprimé la précipitation par l'acide trichloracétique et la filtration subséquente. Voici les détails de la méthode Bell-Doisy-Briggs, telle que nous l'avons appliquée.

Réactifs :

Solution de molybdate. — Cette solution contient 5 % de molybdate d'ammonium dans de l'acide sulfurique cinq fois normal. On la prépare de la façon suivante. On dissout 25 grammes de molybdate d'ammonium dans 300 cm³ d'eau et l'on ajoute 75 cm³ d'acide sulfurique concentré, additionnés au préalable de 125 cm³ d'eau.

Solution d'hydroquinone. — Cette solution est à 1 % et contient une goutte d'acide sulfurique concentré pour retarder l'oxydation ; on la conserve dans un flacon bien bouché.

Solution de sulfite. — On se sert d'une solution de sulfite de soude à 20 %. La teneur de la solution en sulfite diminue par suite d'oxydation, mais la quantité employée pour développer la coloration est suffisante, tant qu'une odeur de SO² se dégage.

Solutions témoins de PO⁴H²K. — On se sert du sel pur, pulvérisé, qui a été desséché pendant plusieurs jours dans un dessiccateur en présence d'acide sulfurique concentré. On dissout 4,394 gr. dans un litre d'eau distillée et l'on ajoute 5 cm³ de chloroforme comme antiseptique. 1 cm³ de cette solution contient 1 milli-

(31) A. P. BRIGGS. — *Journ. biol. Chem.*, 59, 255 ; 1924.

gramme de phosphore. A partir de cette solution, on prépare par dilution appropriée des solutions témoins, contenant par centimètre cube une quantité de sel correspondant à 0,1 mgr. de P, 0,05 mgr. de P, etc. Chacune de ces solutions est additionnée également de chloroforme.

Dosage du phosphore. — Dans une fiole jaugée de 20 cm³ on verse une quantité déterminée du liquide à analyser et dans une autre fiole on verse un volume d'une solution témoin, contenant à peu près la même quantité de phosphore que l'échantillon à examiner. Ensuite on ajoute, dans les deux fioles, 2 cm³ de molybdate d'ammonium, 2 cm³ d'hydroquinone et 2 cm³ de sulfite. On ramène le volume total à 20 cm³ avec de l'eau distillée et au bout d'une demi-heure on compare les colorations des liquides à l'aide d'un colorimètre.

Plusieurs auteurs ont appliqué les méthodes de Bell et Doisy ou de Bell-Doisy-Briggs et ils signalent quelques sources d'erreurs possibles. Ainsi, par exemple, W. Denis et L. von Meysenbug (32) ont constaté que la présence de citrates ou d'oxalates peut gêner la production de la coloration bleue, qui se produit quand même lorsqu'on emploie des quantités plus élevées des réactifs.

Marjorie Martland et Robert Robison (33) signalent que l'intensité finale de la coloration bleue varie avec l'acidité primitive du milieu.

H. D. Kay (34) a appliqué la méthode de Bell-Doisy-Briggs au dosage des phosphates à l'état minéral dans le lait et a comparé cette méthode avec celle de Albert Neumann (35, 36), telle que l'a employée Robert Robison (37) pour des microdosages. (Précipitation des phos-

(32) W. DENIS et L. VON MEYSENBURG. — *Journ. biol. Chem.*, 52, 1 ; 1922.

(33) MARJORIE MARTLAND et ROBERT ROBISON. — *Biochem. Journal*, 18, 765 ; 1924.

(34) H. D. KAY. — *Biochem. Journal*, 19, 433 ; 1925.

(35) A. NEUMANN. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 31, 129 ; 1902.

(36) A. NEUMANN. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 43, 35 ; 1904.

(37) R. ROBISON. — *Biochem. Journal*, 17, 286 ; 1923.

phates sous forme de phosphomolybdate d'ammonium, dissolution du précipité dans de la soude et titrage de l'excès de soude).

C. P. Stewart et W. Archibald (38) ont eu des difficultés avec la méthode de Bell-Doisy-Briggs, sauf pour le dosage du phosphore minéral. Ils indiquent une méthode par titrage.

R. V. Stanford et A. H. M. Wheatly (39) ont également contrôlé l'exactitude de la méthode de Bell-Doisy-Briggs. Ils indiquent entre autres quelques changements de détail pour le dosage du phosphore organique, mais pas pour le phosphore minéral.

Cyrus H. Fiske et Yellapragada Subbarow (40) proposent comme réducteur à la place de l'hydroquinone l'acide 1, 2, 4-aminonaphtosulfonique.

Nous avons appliqué la méthode de Bell-Doisy-Briggs, telle que nous l'avons décrite en détail ci-dessus. Il fallait contrôler d'abord si la coloration bleue est bien proportionnelle à la quantité de phosphore, comme l'a indiqué Briggs. À cet effet, nous avons fait des dosages de phosphore avec une solution témoin de $\text{Pu}^4\text{H}^2\text{K}$, d'une concentration connue.

Pour les dosages comparatifs, nous nous sommes servi de volumes différents de la solution témoin. Dans le tableau suivant (tableau I) les chiffres de la première colonne indiquent le rapport entre les concentrations des phosphates dans les deux échantillons, la deuxième colonne indique les rapports des hauteurs lues au colorimètre, et dans la troisième on trouve l'erreur d'observation, rapportée pour cent.

(38) C. P. STEWART et W. ARCHIBALD. — *Biochem. Journal*, **19**, 484 ; 1925.

(39) R. V. STANFORD et A. H. M. WHEATLY. — *Biochem. Journal*, **19**, 697 ; 1925.

(40) CYRUS H. FISKE et YELLAPRAGADA SUBBAROW. — *Journ. biol. Chem.*, **66**, 375 ; 1925.

TABLEAU I

I	II	III
I : 1,200	I : 1,198	0,17
I : 1,500	I : 1,506	0,4
I : 1,500	I : 1,483	1,1
I : 2,000	I : 1,975	1,25
I : 2,000	I : 2,000	0
I : 2,000	I : 2,026	1,3
I : 2,000	I : 2,000	0
I : 2,000	I : 1,975	1,25
I : 4,000	I : 3,950	1,25
I : 4,000	I : 3,950	1,25
I : 8,000	I : 6,695	16,3

On voit que les concentrations jusqu'à la proportion 1 : 4 donnent une erreur qui ne dépasse pas 1,3 %. A partir d'une proportion de 1 : 8, l'intensité de la coloration bleue ne peut plus être considérée comme proportionnelle aux concentrations en phosphore.

Toutes les lectures du tableau I ont été faites une demi-heure après l'addition des réactifs dans l'ordre indiqué. Afin d'étudier l'influence du temps sur la production de la coloration bleue, nous avons également fait des lectures au bout de temps plus longs. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant (tableau II).

TABLEAU II

Durée en minutes	I	II	III
60	I : 2,000	I : 2,057	2,85
90	I : 2,000	I : 2,000	0
120	I : 2,000	I : 1,973	1,35
60	I : 4,000	I : 3,950	1,25

Il suit de ce tableau que la coloration ne change plus sensiblement après une demi-heure d'action des réactifs.

Pour éviter toute erreur imputable à une différence trop grande entre les concentrations en phosphore dans les liquides à comparer, nous avons toujours préparé plusieurs témoins différents. Ainsi, pour chaque dosage de phosphore, nous avons pu choisir un témoin d'une coloration à peu près égale à celle de la solution à analyser.

Il est encore à noter que les volumes des liquides à analyser et des témoins, avant que nous ayons ajouté les réactifs, ont toujours été ramenés à 12 cm³. Ainsi il était possible d'obtenir encore une coloration bleue assez foncée avec des liquides, qui ne contenaient que très peu de phosphates, en prenant par exemple 10 ou 12 cm³ de ces liquides, tandis qu'avec des solutions plus concentrées en phosphates on n'employait par exemple qu'un centimètre cube ou deux.

II. — *Le dosage du sucre réducteur*

Nous avons dosé le sucre réducteur d'après la méthode iodométrique de N. Schoorl (41), fort employée en Hollande. Comme cette méthode de dosage, dans laquelle on n'a pas besoin de filtrer, est peu connue en France, nous en donnons ici la description :

On se sert de la liqueur de Soxhlet-Meissl-Herzfeld. On dissout 69,278 grammes de sulfate de cuivre cristallisé dans de l'eau et l'on ramène le volume à un litre. On dissout d'autre part 346 grammes de tartrate double de potassium et de soude et 100 grammes de soude caustique dans de l'eau et l'on ramène également le volume à un litre.

(41) N. SCHOORL. — *Chemisch Weekblad*, 9, 687 ; 1912. — *Ibidem*, 12, 482 ; 1915. — *Chemisch Jaarboekje*, Vol. II, p. 136 (D. B. Centen, éditeur, Amsterdam, 1920).

Dans une fiole conique d'Erlenmeyer, en verre d'Iéna, d'une capacité de 200-300 cm³ on verse à l'aide de pipettes 10 cm³ de la solution de sulfate de cuivre et 10 cm³ de la solution de sel de Seignette. On ajoute ensuite 30 cm³ de la solution de sucre à analyser, convenablement diluée. Ce volume de solution de sucre ne doit pas contenir plus de 90 milligrammes de glucose ou de saccharose interverti. D'autre part un deuxième échantillon de la solution cupro-potassique est additionné de 30 cm³ d'eau distillée.

On porte ensuite en 3 minutes jusqu'à l'ébullition, en plaçant la fiole sur un support muni d'une toile métallique, qui est couverte d'un morceau d'amiante, dans lequel on a fait un trou d'un diamètre convenable. On fait bouillir pendant deux minutes.

On refroidit rapidement sous le robinet jusqu'à 25° C environ, on ajoute 3 grammes d'iodure de potassium (dissous dans 10 cm³ d'eau au maximum), puis 10 cm³ d'acide sulfurique à 25 % ; on titre immédiatement, en agitant, avec de l'hyposulfite de soude déci-normal.

Lorsque la couleur du liquide devient feuille-morte, on ajoute comme indicateur de l'amidon en quantité suffisante et on continue le titrage avec précaution jusqu'au moment où la couleur vire au jaune crème pur. En opérant de cette façon, on est peu gêné par l'iodure cuivreux et le liquide peut rester un quart d'heure sans que l'oxydation par l'air le fasse redevenir bleu.

Si cette coloration se produit aussitôt le titrage terminé, cela indique que la réaction n'était pas encore finie. Ce cas se présente seulement quand on n'a pas ajouté une quantité suffisante soit d'iodure de potassium, soit d'acide sulfurique, ou bien si l'on a ajouté trop d'eau. Le même phénomène se produit lorsqu'on a procédé au titrage d'une manière trop rapide ou à une température trop basse.

La différence des titrages du témoin et du dosage du sucre donne, à l'aide d'un tableau, la *quantité* de sucre, pourvu que la nature de celui-ci soit connu.

III. — La détermination du pH

On connaît les méthodes électrométriques pour la détermination du pH, qui donnent des résultats très exacts, mais qui exigent assez de temps. Une autre méthode, et c'est celle-ci que nous avons appliquée, est la *méthode colorimétrique*, d'après laquelle on ajoute un indicateur approprié à la solution à examiner et l'on détermine le pH par la coloration qui en résulte. On peut se servir soit de la méthode de S. P. L. Sørensen, soit comme nous avons fait, de celle de L. Michaelis.

La méthode de L. Michaelis (42, 43) n'exige pas de solutions-tampons. On y cherche la quantité d'un indicateur approprié à virage unique, qu'il faut ajouter à une solution alcaline pour obtenir la même coloration qu'avec la solution à examiner. Michaelis a composé des échelles, qui contiennent des quantités déterminées des indicateurs, de sorte qu'on peut connaître directement le pH en ajoutant une certaine quantité de l'indicateur à la solution à examiner et en cherchant le tube de l'échelle, qui a la même nuance de couleur.

Voici les indicateurs employés par Michaelis et les pH qu'on peut déterminer avec chacun d'eux :

α -dinitrophénol.....	pH	2,8 - 4,4
γ -dinitrophénol.....	»	4,0 - 5,4
<i>p</i> -nitrophénol.....	»	5,4 - 7,0
<i>m</i> -nitrophénol.....	»	6,8 - 8,4

IV. — Le dosage de l'azote

Nous avons dosé l'azote d'après la méthode de Kjeldahl, telle qu'elle a été appliquée par Fritz Pregl (44)

(42) L. MICHAELIS et A. GYEMANT. — *Biochem. Zeitschr.*, **109**, 166 ; 1920.

(43) L. MICHAELIS et R. KRÜGER. — *Biochem. Zeitschr.*, **119**, 307 ; 1921.

(44) FRITZ PREGL. — *Die quantitative organische Mikroanalyse*. — Berlin, 1923.

pour le micro-dosage de l'azote. Nous nous sommes servi d'un appareil, employé par M. Javillier à l'Institut Pasteur de Paris (fig. 1), qui diffère légèrement de celui

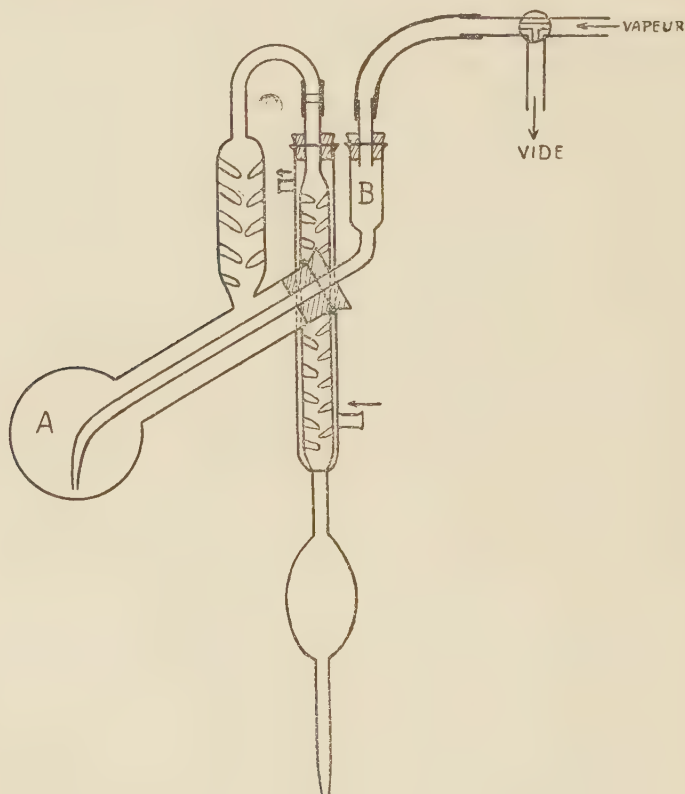


Fig. 1.

indiqué par Pregl, mais nous avons suivi exactement les détails de la méthode indiquée par ce dernier. La destruction de la matière organique est faite à l'aide d'acide sulfurique concentré, additionné de quelques cristaux de sulfate de cuivre et de sulfate de potassium. Lorsque le liquide devient incolore, on laisse refroidir et on ajoute de l'eau. Le liquide dilué est introduit dans le ballon A (fig. 1) par le tube B, par lequel on ajoute égale-

ment la lessive de soude. Immédiatement après, on introduit de la vapeur par le tube B, qu'on relie à cet effet avec un ballon, muni d'un tube de sûreté, dans lequel on fait bouillir de l'eau et qui a été porté préalablement à l'ébullition.

Comme la distillation par la vapeur ne suffit pas, on maintient l'ébullition dans le ballon A par un brûleur approprié, placé en dessous de ce ballon. On reçoit l'ammoniaque dans de l'acide chlorhydrique N/70 et l'on titre l'acide restant avec de la soude N/70 (*).

(*) Pour vider l'appareil sans avoir besoin de le démonter, on peut relier B' avec la trompe, détail que nous devons à notre collègue J. Loiseleur. Nous avons simplifié sa méthode en nous servant d'un robinet à trois voies en verre Pyrex, ainsi que l'indique la figure 1.

DEUXIÈME PARTIE

Recherches personnelles

A. — LE RÔLE DU PHOSPHORE DANS LE DÉVELOPPEMENT DE LA LEVURE

CHAPITRE III

LE RÔLE DU PHOSPHORE DANS DES MILIEUX ARTIFICIELS, CONTENANT DU SUCRE

Pour étudier le développement d'une levure dans un milieu nutritif et pour suivre de près les changements de ce milieu qui en résultent, il est préférable de se servir d'un liquide constitué par des substances chimiquement définies. Nous avons choisi une solution de la composition suivante :

Glucose.....	7,5	%
NO ³ NH ⁴	0,2	»
SO ⁴ Mg.....	0,025	»
PO ⁴ H ² NH ⁴	0,025	»
PO ⁴ H ² K.....	0,025	»
SO ⁴ Fe }	traces	
SO ⁴ Zn }		
SO ⁴ Mn }		

Ce liquide nous a servi pour faire trois séries d'expériences. La série A renferme toutes les substances mentionnées + 0,05 % d'acide tartrique ; la réaction du liquide de cette série correspond à $pH = 3,3$. La série B reste telle quelle et sa réaction correspond à $pH = 5,3$; la série C enfin est neutralisée par l'addition de craie avec $pH = 7,0$. Pour chaque série le mode opératoire était le suivant.

Dans des flacons en verre vert d'une capacité de 125 cm³ nous avons mis à l'aide d'une pipette 50 cm³ de la solution nutritive, puis nous les avons stérilisés à l'autoclave. Dans la série C, la craie a été ajoutée seulement après la stérilisation et après le refroidissement, afin d'éviter une précipitation des phosphates sous forme de sels de calcium pendant la stérilisation. Nous avons ajouté dans chaque flacon de la série C à l'aide de pipettes stériles 5 cm³ d'une suspension préalablement stérilisée de craie à 5 % dans de l'eau distillée. (Cette quantité de craie s'est montrée un peu petite ; plus tard nous avons ajouté dans nos expériences 5 cm³ d'une suspension de craie à 15 %.)

Lesensemencements ont été faits avec des pipettes de Pasteur, en prenant une culture jeune de la levure J de distillerie, de la collection de l'Institut Pasteur à Paris, dans le milieu de culture de la série B. Dans chaque flacon nous avons ajouté le même nombre de gouttes, pour que chaque échantillon reçoive une quantité de levure aussi égale que possible.

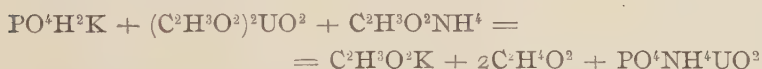
La culture de la levure a été effectuée à une température de 25° C. Pour les analyses, nous avons versé le contenu d'un flacon dans une fiole jaugée de 100 cm³, nous avons bien lavé le flacon et ramené le volume total à 100 cm³. Les analyses ont été faites sur le filtrat limpide. Il est à noter que les analyses, faites à des jours différents, n'ont pas été faites dans le même flacon. Cette méthode est préférable au point de vue stérilité, et quoique les résultats obtenus soient nécessairement moins réguliers, ce mode opératoire présente l'avantage

de permettre de suivre à la fois un certain nombre de fermentations.

Pour suivre le développement de la levure et les changements du milieu de culture, nous avons déterminé 1^o la quantité de phosphate minéral restant dans le liquide, 2^o la quantité de sucre réducteur restant dans le milieu et 3^o le *pH*.

Les phosphates ont été dosés d'après la méthode colorimétrique de Bell-Doisy-Briggs, que nous avons décrite dans le chapitre II.

Pour avoir un contrôle de nos résultats, nous avons également dosé le phosphore d'après la méthode à l'acétate d'urane de Pincus (45). On connaît le principe de cette méthode. Si l'on ajoute de l'acétate d'urane à une solution neutre, ou faiblement acidifiée avec de l'acide acétique, de phosphate, on obtient un précipité vert-blanchâtre de phosphate d'urane. En présence de sels d'ammonium, cette base est entraînée également dans le précipité, suivant la formule :



On se sert du ferrocyanure de potassium comme indicateur de fin de réaction (méthode à la touche) ; on obtient une coloration marron dans une goutte du liquide, aussitôt que ce dernier contient de l'acétate d'urane en excès. Pour obtenir une précipitation complète, il faut faire la titration à chaud. Comme des solutions de phosphate de calcium donnent à l'ébullition un précipité de diphosphate de calcium ($\text{PO}^4\text{H}\text{Ca}$), on précipite la plus grande partie des phosphates à froid et l'on porte ensuite à l'ébullition ; on finit la titration avec l'acétate d'urane à chaud.

Pour déterminer le titre de la solution d'acétate

(45) Voir : F. P. TREADWELL. — *Kurzes Lehrbuch der Analytischen Chemie*, Bd II, S. 622 (7^e édition, 1917).

d'urane, on se sert d'une solution de phosphate de potassium d'une concentration connue. 50 cm³ de cette solution sont mélangés avec 10 cm³ d'une solution d'acétate d'ammonium (contenant par litre 100 grammes d'acétate d'ammonium pur et 100 cm³ d'acide acétique de la densité 1,04). On ajoute de la solution d'acétate d'urane à froid, jusqu'à ce qu'une goutte, mise sur quelques petits cristaux de ferrocyanure de potassium, donne une coloration marron ; on fait alors bouillir. La réaction avec le ferrocyanure cesse de se produire. On continue le titrage à chaud jusqu'au moment où elle se produit de nouveau.

Pour doser les phosphates, on prend soin que les solutions aient à peu près la même concentration que la solution de phosphate témoin et l'on opère de la même façon que pour la détermination du titre de l'acétate d'urane.

Le sucre réducteur et le *pH* ont été déterminés suivant les méthodes que nous avons décrites dans le chapitre II.

Voici les résultats des trois séries A, B et C, résumés dans les tableaux III, IV et V (*).

Dans les trois tableaux III, IV et V nous avons en ce qui concerne le sucre réducteur et le phosphore, donné les quantités restantes dans le liquide (rest.), c'est-à-dire les valeurs trouvées par les dosages, et également les quantités consommées par la levure (cons.).

Nous avons dit que les analyses successives ont été effectuées à partir de flacons différents. Ainsi s'explique par exemple la légère augmentation du glucose restant dans le milieu, dans la série A après 215 et 238 heures.

On peut se demander si, pendant la fermentation qui a lieu à une température de 25° C, la craie dans la série C

(*) Il est à noter que les analyses au commencement des expériences (0 heure) ont été effectuées dans des flacons non-ensemencés. On peut expliquer ainsi que dans les analyses après 46 heures des séries A et B on ait trouvé plus de phosphore qu'au début, étant donné qu'en ensemençant avec quelques gouttes, on a ajouté également un peu de sels nutritifs.

TABLEAU III

Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. P par cm ³ Bell-Doisy-Briggs		Mgr. P par cm ³ Pincus		pH
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	92,6	0	0,126	—	0,128	—	3,3
46	91,6	1,0	0,142	0	0,142	0	3,3
70	90,2	2,4	0,138	0,004	0,124	0,018	3,2
119	87,6	5,0	0,137	0,005	0,119	0,023	3,0
143	86,8	5,8	0,134	0,008	0,106	0,036	3,0
167	83,4	9,2	0,130	0,012	0,099	0,043	3,0
191	80,2	12,4	0,123	0,019	0,099	0,043	2,8
215	84,4	8,2	0,133	0,009	0,109	0,033	—
238	83,4	9,2	0,133	0,009	0,116	0,036	—
360	—	—	0,120	0,022	0,099	0,043	—

TABLEAU IV

Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. P par cm ³ Bell-Doisy-Briggs		Mgr. P par cm ³ Pincus		pH
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	93,0	0	0,132	—	0,138	—	5,3
46	89,4	3,6	0,142	0	0,144	0	5,3
70	91,0	2,0	0,139	0,003	0,122	0,022	5,1
119	—	—	0,124	0,018	0,116	0,028	4,6
143	78,4	14,6	0,127	0,015	0,109	0,035	3,0
167	69,0	24,0	0,116	0,026	0,106	0,038	3,2
191	67,2	25,8	0,124	0,018	0,099	0,045	3,2
215	66,6	26,4	0,118	0,024	0,099	0,045	3,1
238	—	—	0,115	0,027	0,096	0,048	3,1
360	64,6	28,4	—	—	0,099	0,045	3,0

TABLEAU V

Série C

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. P. par cm ³ Bell-Doisy-Briggs		Mgr. P. par cm ³ Pincus		pH
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	93,0	0	0,131	0	0,138	0	7,0
46	71,4	21,6	0,112	0,019	0,134	0,004	6,8
70	66,8	26,2	0,077	0,054	0,082	0,056	6,6
119	55,8	37,2	0,044	0,087	0,058	0,080	6,3
143	40,4	52,6	0,028	0,103	0,040	0,098	6,4
167	—	—	—	—	—	—	—
191	31,0	62,0	0,019	0,112	0,033	0,105	6,8
215	21,6	71,4	0,019	0,112	0,026	0,112	6,4
238	16,2	76,8	0,019	0,112	0,023	0,115	6,3
360	0	93,0	0	0,131	0,013	0,125	6,6

n'a pas précipité une partie des phosphates. Pour répondre à cette question, nous avons fait l'expérience suivante. Nous avons conservé à l'étuve un flacon de la série C non-ensemencé, qui a été analysé seulement à la fin de l'expérience. Cette analyse a montré que les phosphates n'ont pas été précipités par la craie; le liquide contenait encore 0,131 mgr. de phosphore par centimètre cube, c'est-à-dire la même quantité que le liquide initial.

Est-ce que les phosphates minéraux, qui disparaissent pendant l'expérience, ont été utilisés seulement pour la formation des cellules de levure ou est-ce qu'il y a eu production de produits organiques solubles, contenant du phosphore, et qu'on ne peut pas doser avec les méthodes dont nous nous sommes servi ?

Pour répondre à cette question, il suffit de déterminer la proportion de phosphore que renferme la levure formée. On verra plus loin que le phosphore disparu se retrouve dans les cellules de levure formées. Il n'y a

donc pas de production de composés organiques solubles, contenant du phosphore.

D'après les chiffres donnés dans les tableaux III, IV et V on peut facilement calculer les quantités de sucre

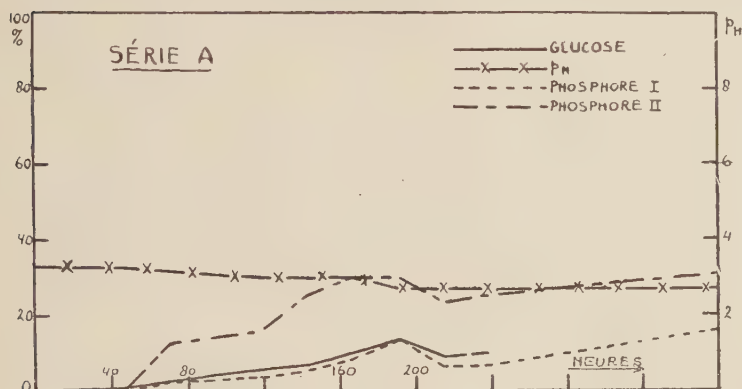


Fig. 2.

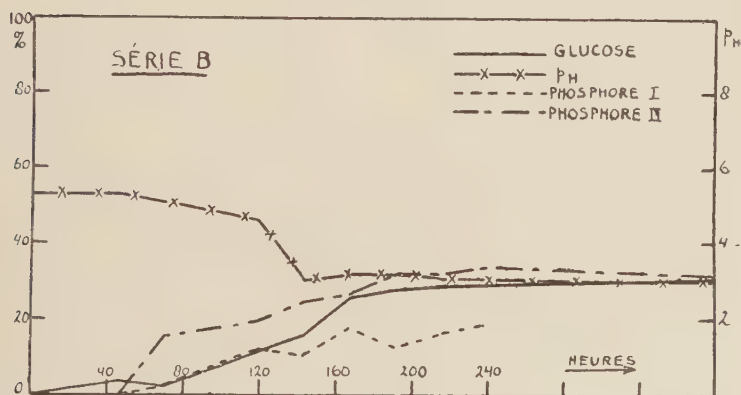


Fig. 3.

et de phosphore consommées par la levure, rapportées pour cent. Dans les représentations graphiques des figures 2-8 nous avons reporté comme ordonnées ces rapports centésimaux, la durée de l'expérience étant indiquée sur l'abscisse. Une courbe spéciale indique les modifications du pH.

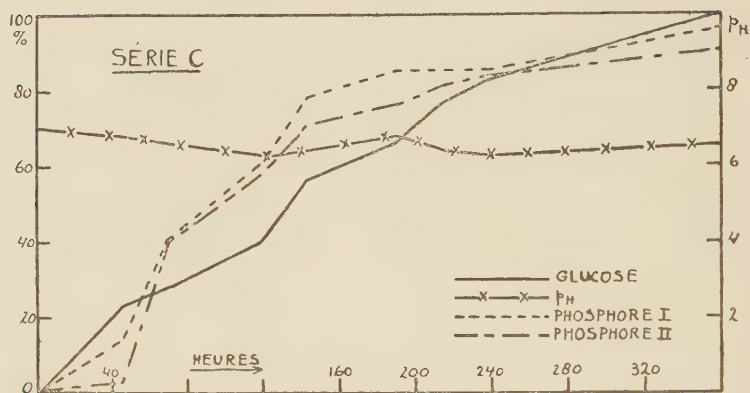


Fig. 4.

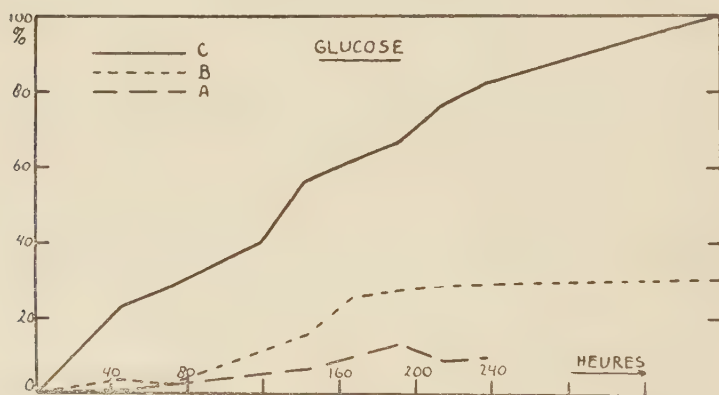


Fig. 5.

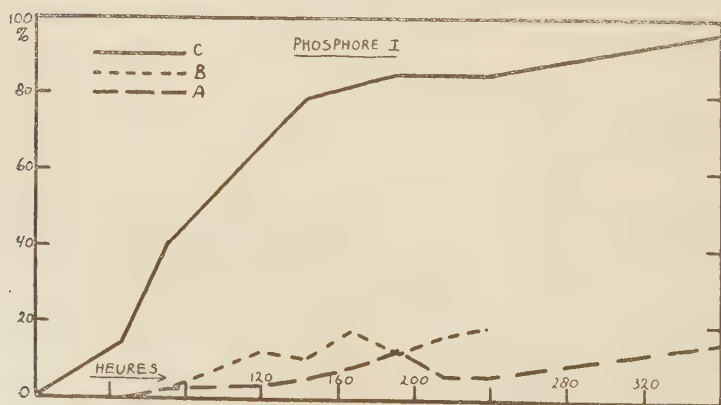


Fig. 6.

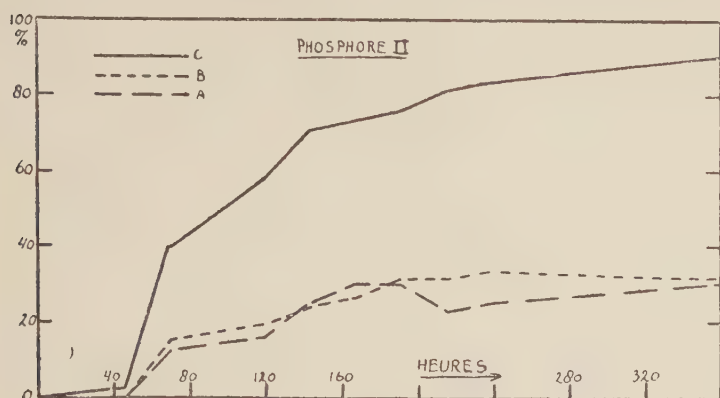


Fig. 7.

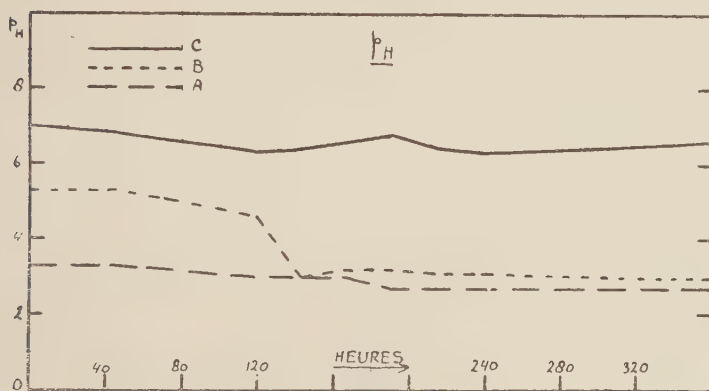


Fig. 8.

Dans les figures 2, 3 et 4 on trouve respectivement les résultats des séries A, B et C. Le phosphore, dosé par la méthode colorimétrique de Bell-Doisy-Briggs a été représenté par phosphore I, et le phosphore dosé par la méthode à l'acétate d'urane de Fincus par phosphore II.

Les valeurs pour le glucose dans les trois séries sont réunies dans le graphique figure 5, pour le phosphore I dans la figure 6, pour le phosphore II dans la figure 7 et pour le pH dans la figure 8.

Il résulte des figures 2, 3 et 4 que le dosage du phos-

phore d'après les deux méthodes donne des chiffres bien correspondants (*), de sorte que dans la suite de nos recherches nous avons seulement dosé le phosphore d'après la méthode colorimétrique, plus facilement maniable.

Ensuite il résulte des figures 2, 3 et 4 que le sucre consommé est en rapport avec le phosphore consommé, ce qui est bien compréhensible ; étant donné que tout le phosphore disparu est consommé par la levure, la quantité de levure formée est proportionnelle d'une part au phosphore consommé et d'autre part évidemment à la quantité de sucre consommé ; cette dernière doit donc également être en rapport avec le phosphore consommé.

Si l'on résume les résultats de nos essais qui viennent d'être relatés, on voit que la fermentation a eu lieu avec plus d'intensité dans la série C, moins bien dans la série B et plus faiblement encore dans la série A. Or, comme l'on voit dans la figure 8, les réactions initiales de ces trois milieux ont été bien différentes. Dans la série C, la réaction a été maintenue aux environs de la neutralité, tandis que dans les séries B et A la réaction était de plus en plus acide.

On aurait pu se demander si la différence dans l'intensité de la fermentation, qui s'est manifestée dans ces expériences, est causée par la différence de réaction des liquides nutritifs. Ou bien s'agit-il peut-être, dans la série C, d'une influence favorable, exercée par un sel de calcium, entré en solution ? Afin de répondre à cette question nous avons répété nos essais de la série B, mais en ajoutant dans nos milieux, en dehors des substances indiquées, 0,1 % de chlorure de calcium (série B'). Si la vitesse de la fermentation dans la série C devait être expliquée par la présence d'un sel soluble de calcium et non par la

(*) Il faut noter toutefois que, dans les séries A et B, les valeurs trouvées d'après la méthode de Pincus, sont toujours plus élevées que celles trouvées d'après la méthode de Bell-Doisy-Briggs, mais les courbes qui représentent ces chiffres montrent la même allure.

réaction neutre du milieu, cette nouvelle série B' devrait donner des résultats comparables à ceux que nous avons obtenus dans la série en présence de craie. Or, la série B' a donné les mêmes résultats que la série B. Il s'agit donc en effet de l'influence de la réaction du milieu et non de la présence d'un sel soluble de calcium.

Afin d'éliminer toute influence d'un sel de calcium, nous avons dans nos expériences ultérieures ajouté du chlorure de calcium dans toutes les séries, comme on le verra plus loin.

On voit donc que l'absorption du phosphore, qui est en rapport avec la quantité de levure formée, dépend également de la réaction du milieu. Plus celle-ci est favorable au développement de la levure, plus grande est la récolte de levure et plus grande naturellement est la quantité du phosphore absorbé. Cependant, dans la série C, où le développement de la levure s'est fait avec un maximum d'intensité, la quantité du phosphore absorbé est encore très réduite. Toutefois, le phosphore offert au début, 0,131 mgr. par centimètre cube, a été consommé entièrement, de sorte qu'on se demande, si la levure aurait absorbé plus de phosphore, si l'on lui en avait offert davantage. Cette question sera examinée plus loin.

Comme l'indique le graphique (fig. 6) les rapports entre le phosphate offert et le phosphate consommé se présentent comme suit :

Série A.....	15,4 %
Série B.....	30,0 %
Série C.....	97,0 %

CHAPITRE IV

LE RÔLE DU PHOSPHORE DANS DES MILIEUX NATURELS CONTENANT DU SUCRE

I. — *Levure J de distillerie*

Le développement de la levure dans un milieu purement minéral, tout en étant appréciable, reste néanmoins inférieur à ce qu'on obtient dans des milieux contenant des substances alimentaires organiques. Il était donc nécessaire de suivre l'évolution du phosphore dans un milieu plus riche et avec de la levure se développant plus à l'aise.

A cet effet, nous avons effectué une série de cultures dans de l'eau de touraillons sucrée. On verra que ce milieu peut être employé sans inconvénient pour nos recherches, parce qu'il ne contient que très peu de phosphore sous forme organique, non décelable par la méthode colorimétrique, dont nous nous servons.

Nous avons en effet dosé le phosphore dans ce milieu naturel d'après la méthode de Bell-Doisy-Briggs et également dans le même milieu après la destruction des matières organiques présentes.

Après des expériences préliminaires, nous avons choisi un milieu de la composition suivante :

Eau de touraillons	10	%
Sucre réducteur.....	15	%
$\text{PO}^4\text{H}/(\text{NH}^4)^2$	0,1	%

Comme sucre réducteur nous avons employé du saccharose interverti (*). Dans nos dosages le sucre réducteur est exprimé en glucose et dans les tableaux suivants on trouvera donc l'indication « glucose » pour le sucre réducteur.

A partir du liquide, dont nous avons donné la composition ci-dessus, nous avons préparé deux séries de flacons, comme nous l'avons déjà décrit dans le chapitre précédent. Dans les deux séries A et B nous avons ajouté après la stérilisation 0,1 % de chlorure de calcium, stérilisé préalablement, et dans la série B en outre 5 cm³ d'une suspension stérilisée de craie à 5 %.

Ces expériences ont porté également sur la levure J de distillerie et les analyses ont été faites comme dans le chapitre III.

Nous avons dosé cette fois-ci la quantité totale du phosphore contenu dans le milieu de culture au commencement de l'expérience, après destruction de la matière organique. De temps en temps nous avons aussi dosé le phosphore contenu dans la levure formée. Dans ce but nous avons filtré le liquide à analyser sur un filtre spécial, ne contenant pas de phosphates et nous avons fait la destruction de la matière organique de la levure.

Pour détruire les matières organiques, nous avons chauffé les échantillons dans des matras de Kjeldahl avec un mélange de 10 cm³ d'acide sulfurique concentré et de 10 cm³ d'acide nitrique concentré. Une fois la destruction terminée, nous avons dilué avec précaution avec de l'eau, neutralisé avec de la soude et ramené le volume total à 200 cm³. Dans le liquide obtenu ainsi, nous avons dosé le phosphore d'après la méthode colorimétrique.

Les quantités de phosphore, trouvées alors, ont été cal-

(*) Une solution à 30 % a été intervertie avec de l'acide chlorhydrique ; on a neutralisé avec de la soude et puis on a rendu la solution légèrement acide par l'addition d'un peu d'acide tartrique.

culées comme « milligrammes de P par centimètre cube », de sorte que les chiffres qui se rapportent à la teneur de la levure en phosphore sont exprimés de la même façon que les chiffres qui se rapportent au liquide.

Les résultats des expériences sont représentés dans les tableaux VI et VII (*).

TABLEAU VI

Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		
	rest.	cons.	rest.	cons.	dans la levure
0	121,6	0	0,266	0	—
17	114,6	7,0	0,260	0,006	—
40	106,2	15,4	0,258	0,008	—
64	93,4	28,2	0,232	0,034	—
114	77,2	44,4	0,243	0,023	0,030
140	70,6	51,0	0,253	0,013	—
161	60,4	61,2	0,250	0,016	0,035
185	47,2	74,4	—	—	—
212	41,6	80,0	0,234	0,032	—
305	7,0	114,6	0,240	0,026	—
377	0	121,6	0,252	0,014	0,022
après l'expérience :					
0	120,2	—	0,262	—	—

Après la destruction de la matière organique, le liquide contenait en total, au début de l'expérience, dans la série A, 0,286 mgr. de phosphore par centimètre cube et dans la série B 0,288 mgr. Comme nous l'avons déjà dit, l'eau de touraillons ne contient que peu de phosphore sous forme organique, les quantités de phosphore

(*) Nous avons conservé des flacons nonensemencés des deux séries jusqu'à la fin de l'expérience. Les analyses ont montré que, dans ces flacons, il n'y a eu aucun changement notable, notamment pas de précipitation de phosphates. Ces résultats sont également donnés dans les tableaux VI et VII.

TABLEAU VII

Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		
	rest.	cons.	rest.	cons.	dans la levure
0	119,6	0	0,266	0	—
17	119,6	0	0,262	0,004	—
40	111,8	7,8	0,250	0,016	—
64	95,2	24,4	0,226	0,040	—
114	62,4	57,2	0,220	0,046	0,053
140	22,4	97,2	0,115	0,151	—
161	13,2	106,4	0,101	0,165	—
185	2,4	117,2	0,092	0,174	—
212	—	—	—	—	—
305	0	119,6	0,088	0,178	0,163
377	0	119,6	—	—	—
après l'expérience :					
0	116,4	—	0,260	—	—

inorganique au début dans les milieux étant de 0,266 mgr. par centimètre cube.

Nous avons signalé que le phosphore sous forme minérale, qui disparaît pendant l'expérience, se retrouve dans la levure formée ; il n'y a donc pas production de composés organiques qui passent en solution et qui contiennent du phosphore. Si l'on additionne les quantités de phosphore restant dans le liquide et les quantités de phosphore qu'on retrouve dans la levure, on obtient des chiffres qui correspondent suffisamment bien avec les chiffres trouvés lors du dosage du phosphore présent dans le liquide primitif.

Comme dans les expériences précédentes, nous avons calculé les quantités de sucre et de phosphore consommées, rapportées pour cent, et ces chiffres sont représentés dans le graphique figure 9. Ici encore, dans la série B en présence de craie, le développement de la levure a été beaucoup plus rapide que dans la série A.

Ensuite nous constatons que, dans la série A, contrairement à ce qu'on a observé dans l'expérience précédente, tout le sucre a été consommé, malgré la réaction défavorable du milieu. Cependant, la durée de la fermentation a été le double de celle de la série B. Il faut noter également que, dans la série B, beaucoup plus de phosphore a été consommé que dans la série A.

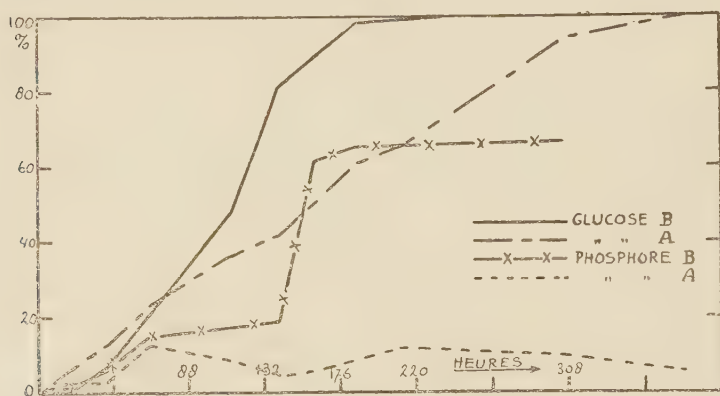


Fig. 9.

Comme l'indique le graphique (fig. 9) les rapports entre le phosphate offert et le phosphate consommé se présentent comme suit :

Série A.....	12 %
Série B.....	67 %

Les résultats qui viennent d'être indiqués soulèvent une question intéressante : la quantité de phosphore absorbée par la levure dépend-elle, toutes conditions égales d'ailleurs, de la dose initiale de cet élément, présente dans le milieu ?

Les expériences suivantes vont nous donner la réponse à cette question. Nous avons préparé un milieu ne contenant qu'un dixième de la quantité de phosphates minéraux, offerts dans l'expérience précédente. En voici la composition :

Eau de touraillons	10	%
Saccharose interverti.....	15	%
$\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$	0,01	%
Asparagine	0,3	%

En raison du fait qu'en diminuant la quantité de phosphate d'ammonium on diminue en même temps la quantité d'azote, nous avons ajouté cette fois-ci encore de l'asparagine comme aliment azoté.

Comme dans l'expérience précédente, nous avons ajouté dans tous les flacons, après la stérilisation, 0,1 % de chlorure de calcium et dans la série B en outre 5 cm³ d'une suspension de craie à 5 %, et nous avons de nouveauensemencé avec la levure J de distillerie.

Les analyses ont été faites comme dans l'expérience précédente.

Nous avons analysé le milieu de culture avant et après la stérilisation, pour voir s'il ne se produit pas de modification dans la concentration des phosphates. Les analyses ont montré que ce n'est pas le cas.

L'expérience a été continuée jusqu'à une durée de 575 heures. Les résultats sont indiqués dans les tableaux VIII et IX.

TABLEAU VIII

Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		
	rest.	cons.	rest.	cons.	dans la levure
0	114,0	0	0,041	0	—
24	113,2	0,8	0,026	0,015	—
47	102,0	12,0	0,025	0,016	—
71	82,8	31,2	0,025	0,016	—
95	63,4	50,6	0,024	0,017	—
118	47,4	66,6	0,029	0,012	0,018
167	52,2	61,8	0,025	0,016	0,021
266	13,4	100,6	0,024	0,017	—
338	0	114,0	0,023	0,018	—
575	0	114,0	0,022	0,019	—

TABLEAU IX

Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		
	rest.	cons.	rest.	cons.	dans la levure
0	116,0	0	0,041	0	—
24	115,4	0,6	0,025	0,016	—
47	79,0	37,0	0	0,041	—
71	46,8	69,2	0	0,041	—
95	5,0	111,0	0	0,041	—
118	2,4	113,6	0	0,041	0,041
167	0,6	115,4	0	0,041	0,048
266	0	116,0	0	0,041	—
338	0	116,0	0	0,041	—
575	0	116,0	0	0,041	—

La destruction de la matière organique dans le milieu de culture à 0 heure a donné comme quantité totale de phosphore dans les milieux A et B 0,049 mgr.par centimètre cube. Les chiffres, trouvés après la destruction de la levure, montrent donc une fois de plus d'une manière satisfaisante que le phosphore qui a disparu du milieu est retrouvé dans la levure formée.

Dans la série A, le pH après 266 et 338 heures a été déterminé et nous avons trouvé respectivement 3,6 et 3,7 ; la série B a été maintenue à la neutralité par la craie.

Le graphique (figure 10) résume les résultats obtenus. On voit que le milieu neutre est plus favorable pour le développement de la levure J que le milieu A qui peut s'acidifier. Dans la série A, le sucre a encore une fois été consommé entièrement, mais dans un temps plus long que dans la série B.

Quant à la consommation du phosphore, nous voyons que, dans la série B, la levure a consommé tout le phosphore offert, tandis que dans la série A il en est resté

jusqu'à la fin environ la moitié de la quantité présente au début de l'expérience.

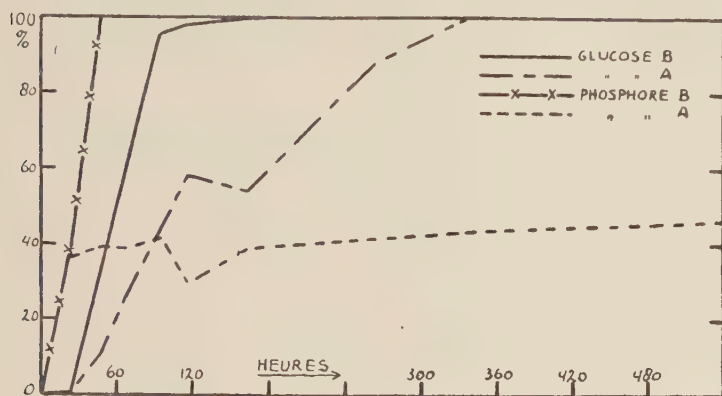


Fig. 10.

Comme l'indique le graphique (fig. 10) les rapports entre le phosphate offert et le phosphate consommé se présentent comme suit :

Série A	46 %
Série B.....	100 %

Comparons ces rapports avec ceux, qu'on a obtenus dans l'expérience précédente : ils sont nettement différents. Les quantités du phosphore consommé, exprimées en milligrammes par centimètre cube, sont en effet sensiblement les mêmes dans les séries correspondantes, et elles sont indépendantes des concentrations initiales en phosphore, de sorte que les rapports, donnés ci-dessus, doivent être différents de ceux de l'expérience précédente, où la quantité de phosphore offerte était beaucoup plus grande. Evidemment cette conclusion n'est valable que dans les cas, où une fraction seulement du phosphore offert est consommée (séries A).

Il suit encore de l'expérience série B que la levure dans des conditions favorables, est capable de consommer tout le phosphore offert, pourvu que sa concentration initiale ne soit pas trop grande.

Déjà dans l'expérience précédente, nous avons attiré l'attention sur ce fait que, dans la série B, la quantité du phosphore consommé est bien plus grande que dans la série A. Ce fait peut être expliqué facilement, étant donné que, dans la série B, il se forme plus de cellules de levure que dans la série A. Ainsi par exemple dans les séries que nous venons de décrire, après 359 heures, la série A contenait 50000 cellules par millimètre cube et la série B 246000. Nous avons déterminé ces chiffres à l'aide de l'hématimètre de Zeiss.

II. — *Levure Logos, Schizosaccharomyces Pombe et levure Delft I*

Le milieu de culture, qui nous a servi pour la dernière expérience, a été également employé pour répéter le même travail avec d'autres levures, pour lesquelles nous avons choisi la levure Logos, le *Schizosaccharomyces Pombe* et la « levure Delft I » (*).

Dans ces expériences, les flacons des séries B ont reçu 5 cm³ d'une suspension de craie à 15 %, comme dans toutes les expériences ultérieures. Pour le reste, toutes les conditions de culture ont été les mêmes. Nous avons laissé continuer les fermentations jusqu'à une durée de 57 jours.

Nous avons suivi la marche de la fermentation en déterminant le pH et en dosant les quantités de sucre réducteur et de phosphore restant dans le liquide ; nous avons également déterminé le nombre de cellules de levure formées (à l'aide de l'hématimètre). Pour effectuer cette numération, nous avons prélevé un certain volume du liquide bien agité, avant de filtrer, après avoir ra-

(*) Cette levure a été isolée de la levure de boulangerie de la «Nederlandsche Gist- en Spiritusfabriek », à Delft (Hollande) et nous a été obligeamment envoyée par le Laboratoire de Microbiologie de l'Université Technique de Delft.

mené le volume du liquide, contenu dans les flacons à analyser, à 100 cm³. Dans le liquide ainsi traité nous avons compté les cellules. Dans les séries B, on dissout

TABLEAU X
Levure Logos. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH	Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	149,6	0	0,045	0	4,4	—
22	148,2	1,4	0,035	0,010	4,1	19,2
46	129,8	19,8	0,027	0,018	3,6	37,6
70	106,6	43,0	0,028	0,017	3,5	43,8
93	93,6	56,0	0,027	0,018	3,5	60,5
117	57,2	92,4	0,024	0,021	3,5	55,1
166	30,4	119,2	0,024	0,021	3,6	53,8
190	26,6	123,0	0,025	0,020	3,5	51,8
262	8,2	141,4	0,026	0,019	3,6	52,3
382	5,8	143,8	0,027	0,018	3,6	58,7
57 jours	0	149,6	0,026	0,019	—	—

TABLEAU XI
Levure Logos. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH	Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	151,4	0	0,045	0	6,5	—
22	150,6	0,8	0,037	0,008	—	10,5
46	124,4	27,0	0,017	0,028	—	48,5
70	93,0	58,4	0	0,045	—	81,9
93	62,2	89,2	0	0,045	—	92,5
117	36,2	115,2	0	0,045	—	124,2
166	8,2	143,2	0	0,045	—	126,0
190	7,0	144,4	0	0,045	—	127,0
262	4,8	146,6	0	0,045	—	143,5
382	—	—	0,018	0,027	—	135,2
57 jours	0	151,4	0,011	0,034	—	—

la craie par l'addition d'acide chlorhydrique, avant de ramener le volume à 100 cm³. Evidemment dans ces liquides on ne pouvait plus déterminer le pH.

Les dosages au début (0 heure) ont été faits dans des

TABLEAU XII

Schizosaccharomyces Pombe. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH	Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	149,6	0	0,045	0	4,4	—
22	—	—	0,040	0,005	4,4	—
46	146,6	3,0	0,033	0,012	4,1	6,2
70	143,6	6,0	0,031	0,014	4,1	10,1
93	134,6	15,0	0,030	0,015	4,0	9,0
117	126,0	23,6	0,033	0,012	4,0	10,3
166	112,6	37,0	0,030	0,015	4,0	11,1
190	108,6	41,0	0,031	0,014	4,0	10,2
262	90,0	59,6	0,035	0,010	4,0	9,6
382	—	—	—	—	—	—
57 jours	88,4	61,2	0,032	0,013	—	—

TABLEAU XIII

Schizosaccharomyces Pombe. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH	Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	151,4	0	0,045	0	6,5	—
22	139,8	11,6	—	—	—	—
46	139,8	11,6	0,043	0,002	—	—
70	141,4	10,0	0,041	0,004	—	—
93	143,6	7,8	0,040	0,005	—	—
117	141,0	10,4	0,043	0,002	—	—
166	139,2	12,2	0,041	0,004	—	—
190	—	—	—	—	—	—
262	134,0	17,4	—	—	—	—
382	—	—	—	—	—	—
57 jours	134,2	17,2	—	—	—	—

flacons ensemencés, de sorte que dans tous les flacons il y avait les mêmes quantités de sels. Nous donnons les résultats de ces expériences dans les tableaux X, XI, XII, XIII, XIV et XV.

TABLEAU XIV
Levure Delft I. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH	Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	149,6	0	0,045	0	4,4	—
22	146,6	3,0	0,034	0,011	4,2	10,7
46	121,0	28,6	0,024	0,021	3,6	25,5
70	102,8	46,8	0,021	0,024	3,5	39,3
93	91,2	58,4	0,020	0,025	3,5	43,3
117	72,8	76,8	0,020	0,025	3,5	32,6
166	58,4	91,2	0,019	0,026	3,5	36,4
190	51,2	98,4	0,020	0,025	3,5	33,8
262	38,0	111,6	0,021	0,024	3,6	38,5
382	14,6	135,0	0,022	0,023	3,5	33,0
57 jours	0	149,6	0,024	0,021	—	—

TABLEAU XV
Levure Delft I. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH	Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	151,4	0	0,045	0	6,5	—
22	140,2	11,2	0,040	0,005	—	6,5
46	129,8	21,6	0,026	0,019	—	16,7
70	109,4	42,0	0,015	0,030	—	33,8
93	98,0	53,4	0	0,045	—	30,8
117	82,6	68,8	0	0,045	—	31,1
166	66,2	85,2	0	0,045	—	30,1
190	50,0	101,4	0	0,045	—	34,0
262	32,6	118,8	0	0,045	—	40,4
382	19,0	132,4	0,015	0,030	—	37,2
57 jours	0	151,4	0,014	0,031	—	—

Les graphiques fig. 11-18 se rapportent aux tableaux X-XV. Dans ces représentations graphiques nous avons également donné les valeurs déterminées pour le pH et pour le nombre des cellules, ce dernier étant exprimé en milliers de cellules par millimètre cube.

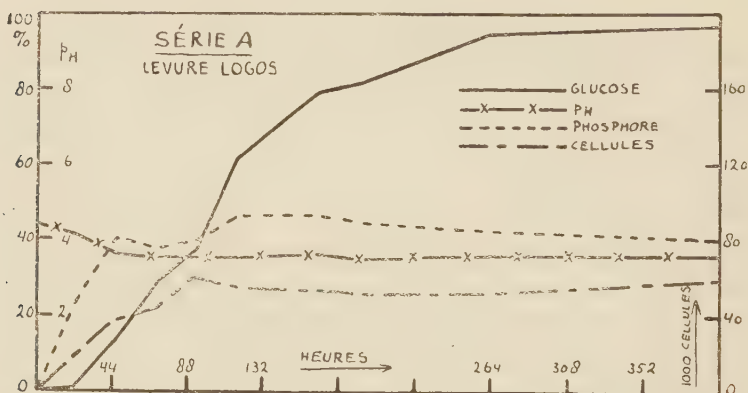


Fig. 11.

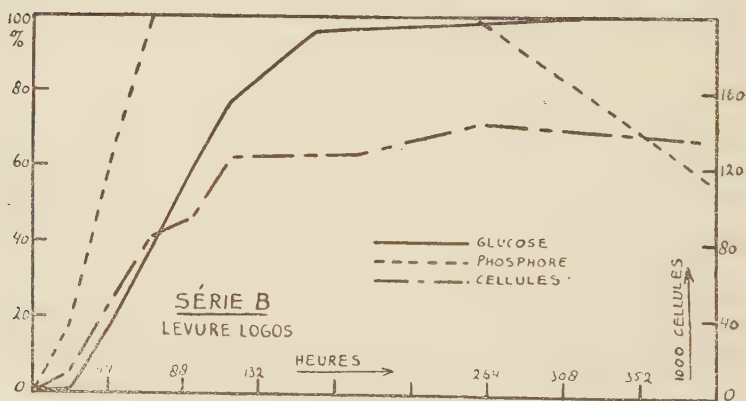


Fig. 12.

Pour la levure Logos, les figures 11 et 12 donnent les résultats des séries A et B. On voit d'après ces graphiques que le nombre de cellules augmente pendant quelques jours seulement, pour rester sans changements impor-

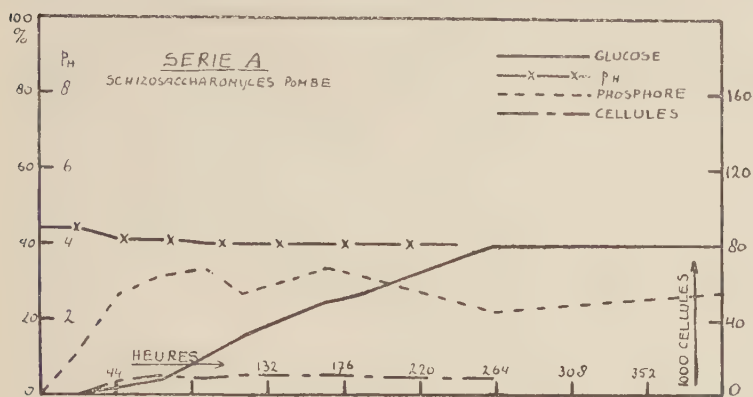


Fig. 13.

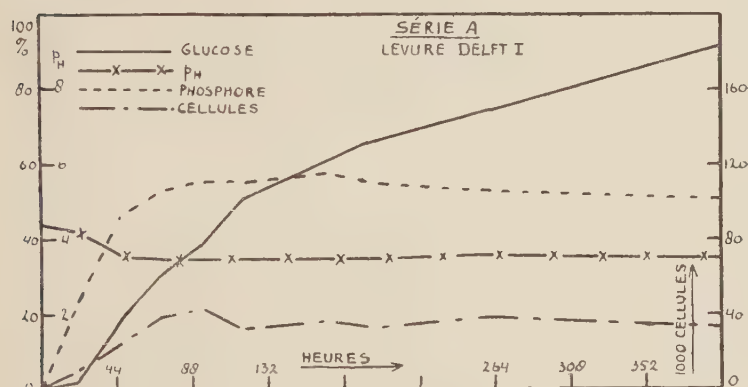


Fig. 14.

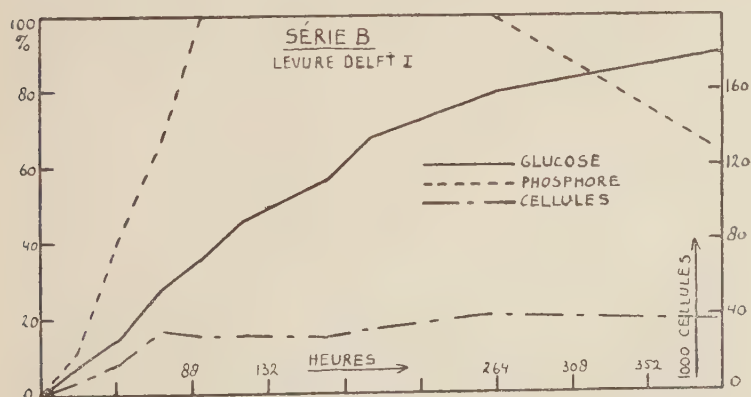


Fig. 15.

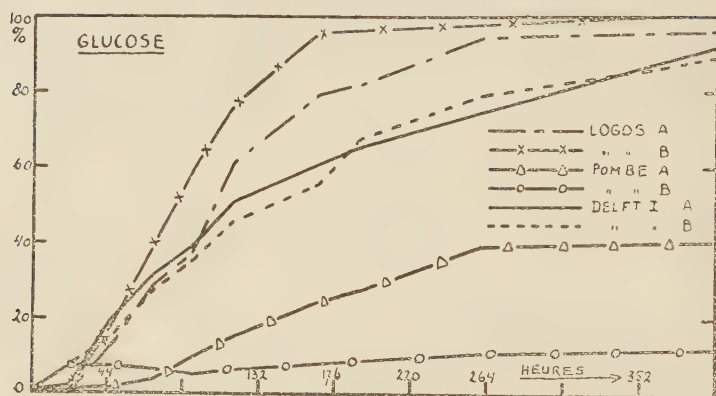


Fig. 16.

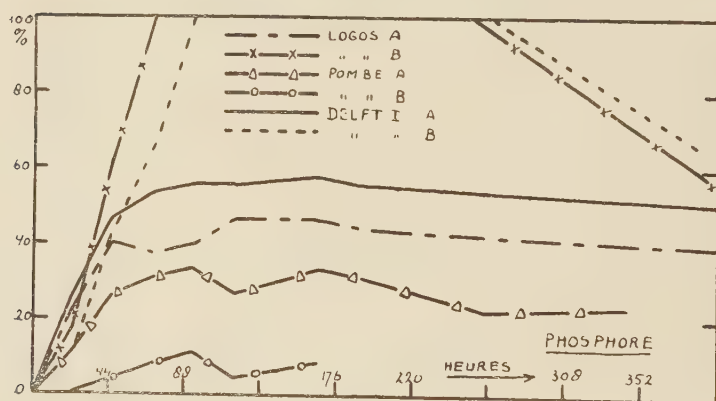


Fig. 17.

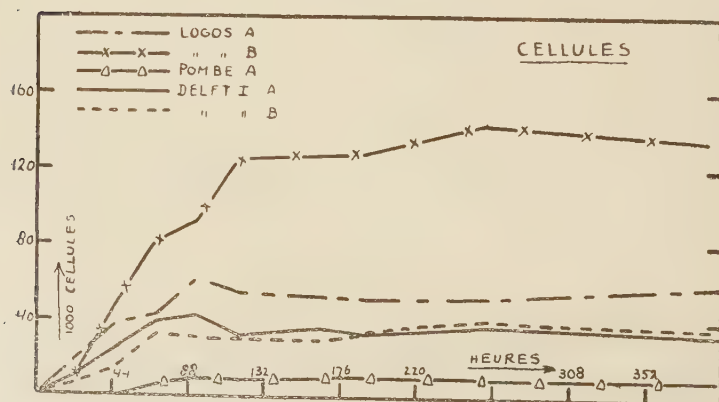


Fig. 18.

tants ensuite, tandis que la consommation du sucre continue régulièrement. C'est donc la levure formée qui fait fermenter le sucre, sans qu'il y a une production importante de cellules nouvelles (*).

Dans la série A, seule une fraction du phosphore est consommée, tandis que dans la série B tout le phosphore disparaît. Dans cette dernière série, vers la fin de l'expérience on voit réapparaître du phosphore dans le milieu, ce qui peut être expliqué par la décomposition des cellules mortes.

La figure 13 donne les résultats de la série A du *Schizosaccharomyces Pombe*. Dans le milieu B cette levure ne s'est pas développée d'une manière notable, ainsi que le montre le tableau XIII. Dans le milieu A le développement a été très faible.

Les figures 14 et 15 donnent les résultats des séries A et B de la levure Delft I. Comme la levure Logos, cette levure a consommé tout le phosphore dans la série B et une partie seulement dans la série A. Dans le milieu avec de la craie le phosphore réapparaît également dans la solution vers la fin de l'expérience.

Le graphique (figure 16) résume la marche de la fermentation de chacune des levures étudiées, telle qu'elle est indiquée par la consommation du glucose. Le graphique (figure 17) résume la consommation du phosphore, le graphique (figure 18) indique la multiplication. Nous laissons de côté les résultats relatifs au *Schizosaccharomyces Pombe*, à cause de son développement insuffisant.

On voit (fig. 16) que la levure Logos, en milieu neutre, a fait disparaître le sucre plus vite que dans le

(*) Il est intéressant de noter que la quantité du phosphore absorbé, par rapport à la quantité du sucre fermenté, est très peu élevée : pour 100 grammes de sucre consommé la levure n'absorbe que 0,03 gr. de phosphore. Il résulte également du tableau XI que, pour faire absorber 1 milligramme de phosphore, il faut la présence de environ 3,2 milliards de cellules de levure, comme le montrent les chiffres ci-après :

143.500.000 cellules de levure ont absorbé 0,045 mgr. de phosphore ;
3,2 milliards cellules de levure ont absorbé 1 mgr. de phosphore.

milieu acide, comme nous l'avons vu jusqu'à présent pour la levure J de distillerie. Cette différence, pour ce qui concerne la consommation du sucre, n'existe pas pour la levure Delft I.

Comme l'indique le graphique (fig. 17) les rapports entre le phosphate offert et le phosphate consommé se présentent comme suit :

Levure Logos :

Série A	47 %
Série B	100 %

Schizosaccharomyces Pombe :

Série A.....	33 %
--------------	------

Levure Delft I :

Série A	58 %
Série B	100 %

D'autre part, tandis que la levure Logos a produit beaucoup plus de cellules en milieu neutre qu'en milieu acide (fig. 18), la levure Delft I a produit la même quantité de levure dans les deux milieux. Fait intéressant, dans ce dernier cas les quantités du phosphore consommé sont considérablement différentes. Il s'agit ici très probablement d'une propriété particulière de la levure Delft I, sur laquelle nous reviendrons plus loin.

III. — *Levure de Champagne Cramant et levure Delft I*

Pour l'étude comparative de la levure Cramant et la levure Delft I, nous nous sommes servi du même milieu que pour les expériences du paragraphe précédent. Cependant, dans ces expériences, nous n'avons pas ajouté du chlorure de calcium, pour une raison qui sera expliquée plus loin, mais cela ne change rien aux résultats qui nous intéressent ici, comme nous avons déjà vu antérieurement. Quelques flacons non ensemencés ont

été conservés jusqu'à la fin de l'expérience, qui a été effectuée, comme dans les expériences précédentes, à une température de 25° C. Les analyses au début (0 heure) ont été faites dans des flaconsensemencés.

Nous donnons les résultats expérimentaux dans les tableaux XVI-XIX.

TABLEAU XVI

Levure de Cramant. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH	Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	162,8	0	0,041	0	4,6	—
46	136,4	26,4	0,024	0,017	3,7	13,9
95	104,6	58,2	0,023	0,018	3,5	18,2
167	52,2	110,6	0,023	0,018	3,4	26,8
48 jours	0	162,8	0,023	0,018	—	—

TABLEAU XVII

Levure de Cramant. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH	Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	161,0	0	0,041	0	6,6	—
46	130,2	30,8	0,019	0,022	—	19,5
95	79,4	81,6	0	0,041	—	52,2
167	36,6	124,4	0	0,041	—	57,8
48 jours	0	161,0	0	0,041	—	—

TABLEAU XVIII

Levure Delft I. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH	Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	162,8	0	0,041	0	4,6	—
46	143,6	19,2	0,025	0,016	3,6	22,3
95	103,2	59,6	0,020	0,021	3,5	30,3
167	60,8	102,0	0,019	0,022	3,5	27,3
48 jours	0	162,8	0,023	0,018	—	—

TABLEAU XIX

Levure Delft I. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH	Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	161,0	0	0,041	0	6,6	—
46	141,4	19,6	0,029	0,012	—	16,4
95	112,0	49,0	0,014	0,027	—	29,6
167	80,6	80,4	0	0,041	—	35,4
48 jours	0	161,0	0	0,041	—	—

Les représentations graphiques correspondantes sont données dans les figures 19-25. Les figures 19 et 20 donnent les séries A et B de la levure de Cramant. Comme nous avons vu pour la levure J de distillerie et pour la levure Logos, la levure de Cramant consomme également tout le phosphore dans le milieu neutre et non dans le milieu acide. Le même cas se présente également de nouveau pour la levure Delft I, ainsi que le montrent les figures 21 et 22.

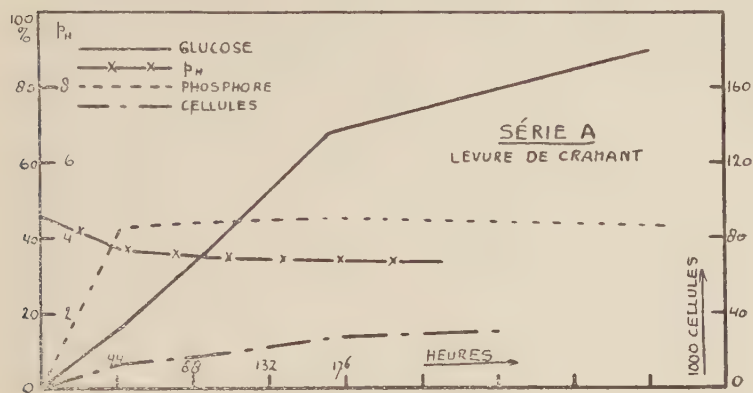


Fig. 19.

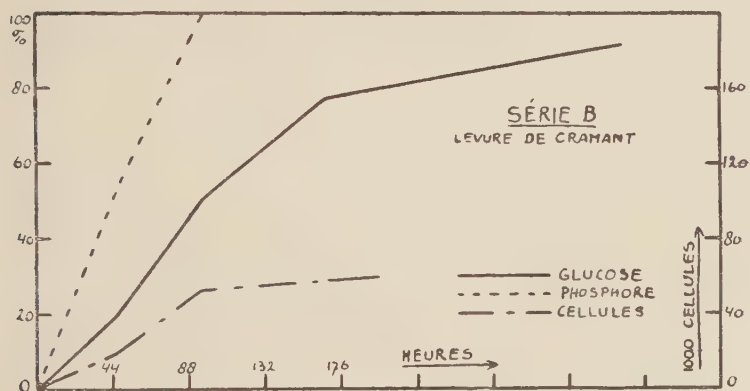


Fig. 20.

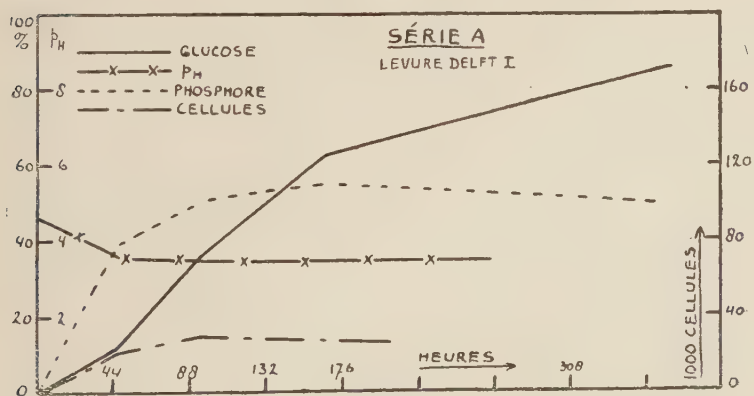


Fig. 21.

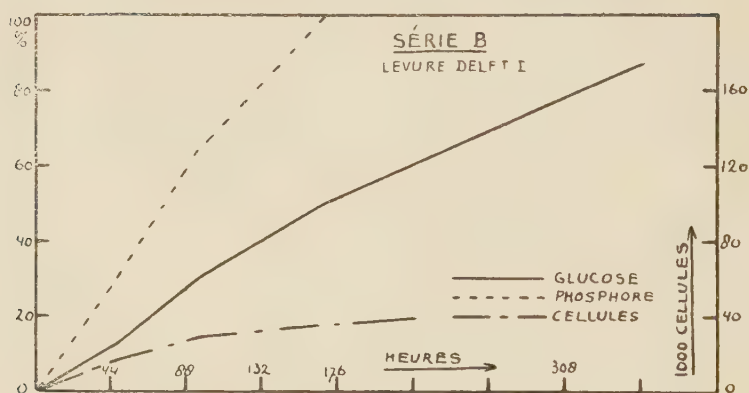


Fig. 22.

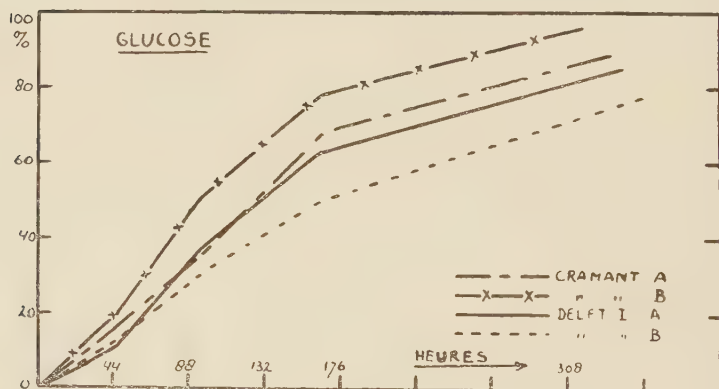


Fig. 23.

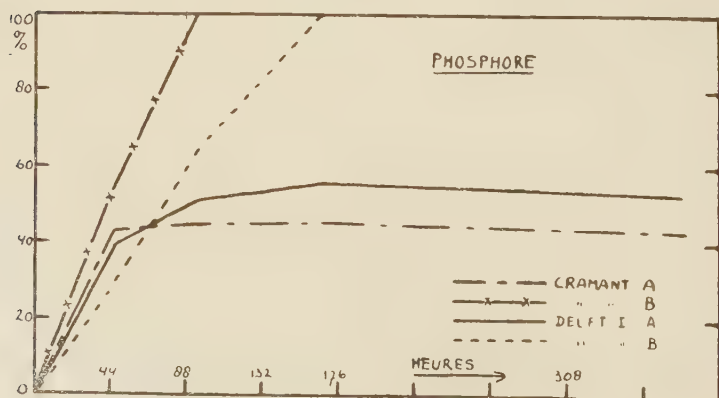


Fig. 24.

Dans les figures 23, 24 et 25 sont résumées respectivement les valeurs du glucose, du phosphore et du nombre de cellules pour les deux milieux et les deux levures. La figure 23 montre que la levure de Cramant fait disparaître le sucre plus vite dans le milieu B que dans le milieu A. Pour la levure Delft I au contraire nous trouvons la confirmation de ce que nous avons déjà vu pour cette levure. Ici le sucre disparaît même un peu plus vite dans le milieu acide A.

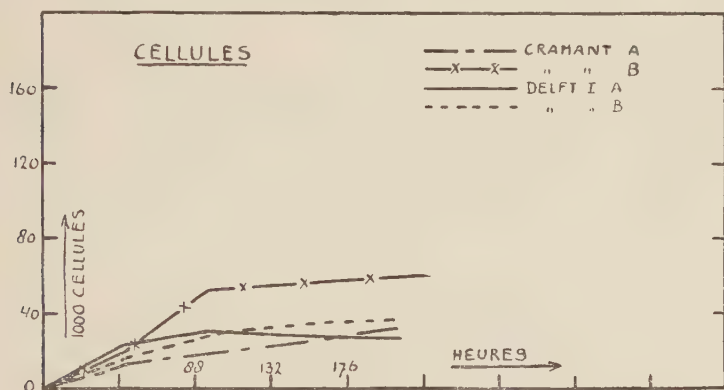


Fig. 25.

La figure 25 montre que la levure de Cramant produit plus de cellules dans le milieu neutre B que dans le milieu A. Seulement pour la levure Delft I, il n'y a pas de différence notable entre les nombres de cellules dans les milieux A et B, fait déjà observé dans l'expérience précédente.

Il résulte de ces expériences que la levure de Cramant se comporte comme la levure J de distillerie et comme la levure Logos. Pour ces trois levures, le milieu neutre est nettement plus favorable que le milieu acide. Ensuite nous trouvons une confirmation complète de la manière particulière dont se comporte la levure Delft I.

Le fait que cette levure, dans le milieu acide A, a fait disparaître le sucre plus vite que dans le milieu neutre B sera expliqué plus loin.

Comme l'indique le graphique (fig. 24) les rapports entre le phosphate offert et le phosphate consommé se présentent comme suit :

Levure de Cramant :

Série A.....	45 %
Série B.....	100 %

Levure Delft I :

Série A.....	56 %
Série B.....	100 %

IV. — *Levure Springer, levure XII et levure Delft I*

Les expériences que nous venons de décrire ont été répétées avec deux levures de la collection de l'Institut Pasteur de Paris, 1^o l'ancienne levure de grains de Springer et 2^o la levure XII, c'est-à-dire la « Rasse XII » de Berlin (Institut für Gärungsgewerbe). Ensuite nous avons encore une fois étudié la levure Delft I.

Il est à noter que dans ces expériences nous avons choisi comme sucre fermentescible du glucose, au lieu du saccharose interverti, qui nous avait servi dans les expériences précédentes. En dehors de ce changement les milieux ont été les mêmes que dans le paragraphe II.

Les résultats des dosages sont donnés dans les tableaux XX-XXV.

TABLEAU XX
Levure Springer. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	137,6	0	0,038	0
22	125,0	12,6	0,024	0,014
70	104,0	33,6	0,013	0,025
94	106,0	31,6	0,012	0,026
118	106,6	31,0	0,012	0,026
166	—	—	0	0,038
262	56,4	81,2	0	0,038
430	0	137,6	0	0,038

TABLEAU XXI

Levure Springer. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	146,2	0	0,036	0
22	135,6	10,6	0,022	0,014
70	72,0	74,2	0	0,036
94	36,2	110,0	0	0,036
118	7,6	138,6	0	0,036
166	5,8	140,4	0	0,036
262	2,4	143,8	0	0,036
430	0	146,2	0	0,036

TABLEAU XXII

Levure XII. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	137,6	0	0,038	0
22	136,4	1,2	0,026	0,012
70	112,2	25,4	0,019	0,019
94	106,0	31,6	0,018	0,020
118	92,0	45,6	0,017	0,021
166	82,0	55,6	0,017	0,021
262	66,6	71,0	0,017	0,021
430	0	137,6	0,012	0,026

TABLEAU XXIII

Levure XII. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	137,6	0	0,036	0
22	137,2	0,4	0,026	0,010
70	87,6	50,0	0	0,036
94	57,2	80,4	0	0,036
118	40,8	96,8	0	0,036
166	5,8	131,8	0	0,036
262	2,4	135,2	0	0,036
430	0	137,6	0	0,036

TABLEAU XXIV

Levure Delft I. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	140,2	0	0,038	0
22	131,4	8,8	0,027	0,011
70	109,4	30,8	0,019	0,019
94	106,6	33,6	0,015	0,023
118	104,0	36,2	0,014	0,024
166	99,6	40,6	0,014	0,024
262	72,0	68,2	0,009	0,029
430	50,6	89,6	0,007	0,031

TABLEAU XXV

Levure Delft I. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	144,8	0	0,038	0
22	—	—	0,029	0,009
70	108,6	36,2	0,006	0,032
94	86,2	58,6	0	0,038
118	71,4	73,4	0	0,038
166	48,0	96,8	0	0,038
262	2,4	142,4	0	0,038
430	0	144,8	0	0,038

Les représentations graphiques des figures 26, 27 et 28 donnent les résultats obtenus dans les essais avec les

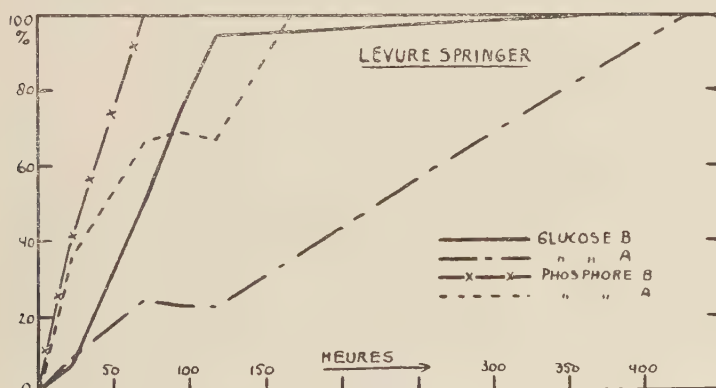


Fig. 26.

trois levures précitées. On voit que la levure Springer et la levure XII se comportent comme la levure J, la levure Logos et la levure de Cramant, c'est-à-dire que le milieu neutre est plus favorable que le milieu acide. Chose curieuse, la levure Delft I, contrairement à ce que nous avons remarqué jusqu'à présent, se comporte

maintenant comme toutes les autres levures étudiées. La manière spéciale dont cette levure s'est comportée dans les expériences antérieures paraît être perdue et l'on constate maintenant une différence très nette entre les

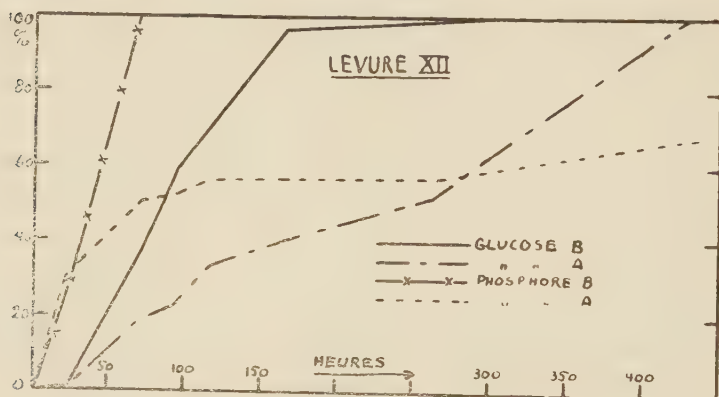


Fig. 27.

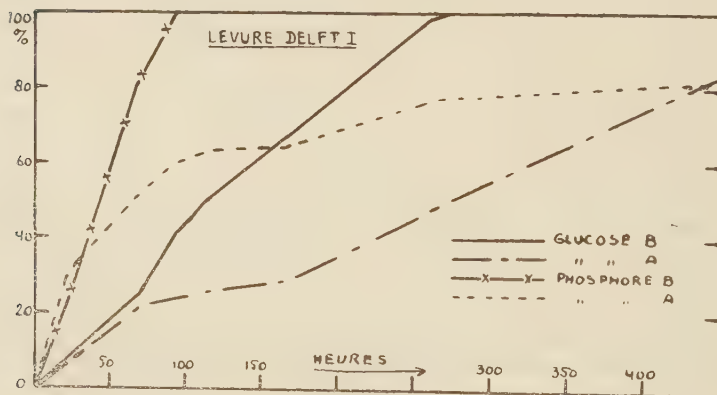


Fig. 28.

séries A et B, le milieu neutre étant plus favorable. On se souvient, qu'en ce qui concerne la disparition du sucre et la quantité de cellules formées, dans les expériences précédentes avec la levure Delft I, il n'y avait pas de différence entre les deux séries, ou même le milieu acide était plus favorable. Est-ce que notre culture de

cette levure a perdu sa qualité spéciale ou s'agit-il ici d'une influence du changement du milieu, le saccharose interverti étant remplacé par du glucose ? Les expériences des paragraphes V et VI nous donneront la réponse.

Comme l'indiquent les graphiques (fig. 26-28), les rapports entre le phosphate offert et le phosphate consommé se présentent comme suit :

Levure Springer :

Série A	100 %
Série B	100 %

Levure XII :

Série A	68 %
Série B	100 %

Levure Delft I :

Série A	82 %
Série B	100 %

V. — *Levure Delft II et levure Delft III*

La levure Delft II provient d'une culture qui a également été isolée à Delft de la levure de boulangerie de la « Nederlandsche Gist- en Spiritusfabriek », huit mois après qu'on avait isolé la première souche de cette levure, et que nous devons également à l'obligeance du Laboratoire de Microbiologie de l'Université Technique de Delft.

La levure Delft III provient d'une culture que nous avons isolée d'une levure de la « Nederlandsche Gist- en Spiritusfabriek », qui a été cultivée dans un milieu acide dans l'usine de Delft et que la Direction de la « Nederlandsche Gist- en Spiritusfabriek » a bien voulu mettre à notre disposition (*).

(*) Nous remercions très sincèrement la Direction de la « Nederlandsche Gist- en Spiritusfabriek » pour l'obligeance avec laquelle elle nous a fourni cette levure.

Nous avons répété l'expérience du paragraphe précédent avec ces deux nouvelles cultures de la levure Delft.

Les milieux ont été les mêmes, et nous avons également choisi du glucose comme sucre fermentescible. En même temps nous avons fait cette expérience avec la levure Delft III dans le milieu contenant comme sucre fermentescible du saccharose interverti.

Les résultats de ces expériences sont représentés dans les tableaux XXVI-XXXI.

TABLEAU XXVI
Levure Delft II (glucose). Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	119,0	0	0,040	0
23	118,0	1,0	0,029	0,011
47	102,2	16,8	0,026	0,014
71	89,2	29,8	0,022	0,018
95	82,4	36,6	0,017	0,023
118	81,4	37,6	0,017	0,023
192	74,0	45,0	0,013	0,027

TABLEAU XXVII
Levure Delft II (glucose). Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	120,4	0	0,040	0
23	119,0	1,4	0,029	0,011
47	102,0	18,4	0,015	0,025
71	75,4	45,0	0,005	0,035
95	57,2	63,2	0	0,040
118	38,2	82,2	0	0,040
192	0	120,4	0	0,040

TABLEAU XXVIII
Levure Delft III (glucose). Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	129,4	0	0,043	0
48	124,4	5,0	0,032	0,011
119	119,8	9,6	0,033	0,010
167	120,6	8,8	0,033	0,010
287	115,0	14,4	0,028	0,015
456	97,2	32,2	0,022	0,021

TABLEAU XXIX
Levure Delft III (glucose). Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	126,6	0	0,042	0
48	—	—	0,034	0,008
119	123,0	3,6	0,032	0,010
167	100,6	26,0	0,015	0,027
287	77,4	49,2	0,014	0,028
456	41,6	85,0	0,013	0,029

TABLEAU XXX
Levure Delft III (saccharose interverti). Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	161,8	0	0,045	0
48	151,6	10,2	0,035	0,010
119	115,0	46,8	0,027	0,018
167	91,0	70,8	0,025	0,020
287	54,8	107,0	0,023	0,022
456	31,2	130,6	0,021	0,024

TABLEAU XXXI

Levure Delft III (saccharose interverti). Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	174,0	0	0,042	0
48	169,2	4,8	0,039	0,003
119	123,2	50,8	0,032	0,010
167	113,2	60,8	0,027	0,015
287	105,6	68,4	0,026	0,016
456	98,6	75,4	0,019	0,023

On voit que les deux nouvelles souches de la levure Delft, dans les milieux contenant du glucose (tableaux XXVI-XXIX), se comportent de la même façon que notre ancienne souche de cette levure dans le même milieu. Donc le milieu neutre est plus favorable, comme pour toutes les autres levures que nous avons étudiées. Mais il résulte des tableaux XXX et XXXI que la levure Delft III, dans le milieu contenant comme sucre du saccharose interverti, nous montre au contraire le caractère spécial que nous avons rencontré dans les paragraphes II et III de ce chapitre. Dans ces conditions, le milieu acide se montre nettement plus favorable que le milieu neutre ; le sucre dans le milieu A disparaît plus vite que dans le milieu B.

On se rappelle que nous avons isolé cette levure d'une levure cultivée dans l'usine dans un milieu acide. Il n'est donc nullement étonnant que cette levure soit gênée par un milieu neutre. Nous reviendrons dans le prochain paragraphe sur cette question.

Les rapports entre le phosphate offert et le phosphate consommé se présentent comme suit :

Levure Delft II (glucose) :

Série A	68 %
Série B	100 %

Levure Delft III (glucose) :

Série A	49 %
Série B	72 %

Levure Delft III (saccharose interverti) :

Série A	52 %
Série B	55 %

Le fait que la levure Delft III montre seulement les propriétés caractéristiques dans le milieu contenant comme sucre du saccharose interverti, et non dans le milieu contenant du glucose, comme nous venons de voir, nous a conduit à répéter les expériences avec les trois souches de la levure Delft dans des milieux contenant du saccharose interverti exclusivement.

VI. — *Levure Delft I, levure Delft II et levure Delft III*

Nous avons donc répété les expériences du paragraphe précédent et nous avons choisi comme sucre fermentescible du saccharose interverti. Les résultats de ces expériences sont représentés dans les tableaux XXXII-XXXVII, le sucre étant toujours exprimé en glucose.

TABLEAU XXXII

Levure Delft I. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	162,4	0	0,043	0
43	142,8	19,6	0,026	0,017
90	105,6	56,8	0,022	0,021
162	79,6	82,8	0,021	0,022
335	29,8	132,6	0,022	0,021

TABLEAU XXXIII

Levure Delft I. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	167,6	0	0,039	0
43	139,0	28,6	0	0,039
90	98,0	69,6	0	0,039
162	64,0	103,6	0	0,039
335	8,4	159,2	0	0,039

TABLEAU XXXIV

Levure Delft II. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	162,4	0	0,043	0
43	136,8	25,6	0,027	0,016
90	109,0	53,4	0,022	0,021
162	76,2	86,2	0,022	0,021
335	19,2	143,2	0,022	0,021

TABLEAU XXXV

Levure Delft II. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	167,6	0	0,039	0
43	141,4	26,2	0	0,039
90	99,2	68,4	0	0,039
162	60,4	107,2	0	0,039
335	6,0	161,6	0	0,039

TABLEAU XXXVI
Levure Delft III. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	162,4	0	0,043	0
43	149,0	13,4	0,028	0,015
90	129,4	33,0	0,027	0,016
162	122,0	40,4	0,027	0,016
335	117,2	45,2	0,026	0,017

TABLEAU XXXVII
Levure Delft III. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	167,6	0	0,039	0
43	165,2	2,4	0,020	0,019
90	143,6	24,0	0,016	0,023
162	142,0	25,6	0,014	0,025
335	140,6	27,0	0,017	0,022

Les représentations graphiques correspondantes sont données dans les figures 29, 30 et 31. Nous constatons que les trois souches de la levure Delft, dans les milieux contenant du saccharose interverti, présentent le caractère spécial que nous avons déjà rencontré antérieurement pour cette levure, contrairement à ce qui arrive dans les milieux contenant du glucose. Dans ce dernier cas les trois souches se comportent comme toutes les autres levures étudiées, pour lesquelles le milieu neutre est plus favorable.

On remarquera que les figures 29 et 30 ont la même

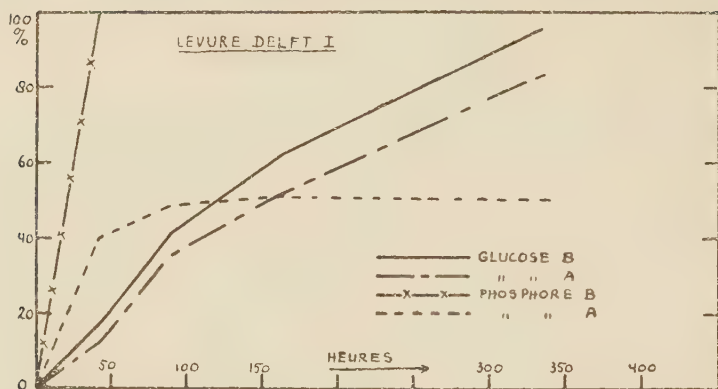


Fig. 29.

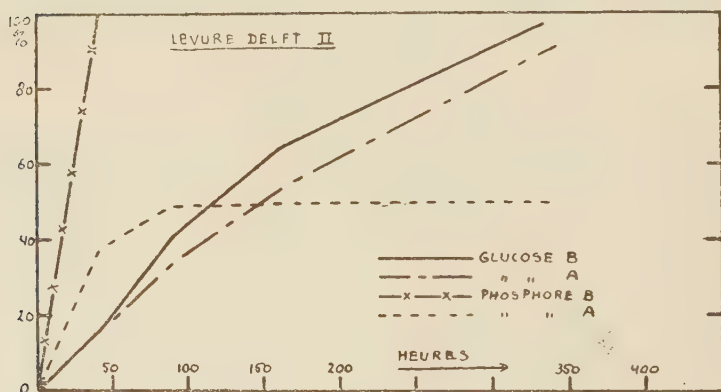


Fig. 30.

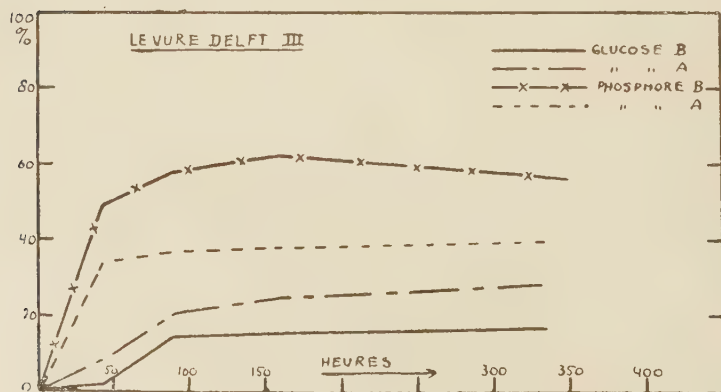


Fig. 31.

allure à peu de chose près ; or, les souches de levure I et II qui ont servi dans ces expériences ont été isolées toutes les deux à Delft, de la levure de boulangerie de la même usine, seulement la souche II a été isolée huit mois après la souche I. On voit que pour ces deux levures la disparition du sucre dans les milieux A et B s'effectue avec la même vitesse. Le phosphore toutefois est consommé entièrement seulement dans les séries neutres, comme dans les expériences précédentes.

Comme nous avons vu dans les expériences du paragraphe II, dans les séries B les quantités de levure produites sont les mêmes que dans les séries A. Il faut donc admettre que les cellules de levure dans les séries B sont plus riches en phosphore que dans les séries A (v. p. 54).

La figure 31 nous montre les résultats obtenus avec la levure Delft III. Dans le milieu A, la quantité de sucre qui disparaît est beaucoup plus grande que dans le milieu B. Cependant, le phosphore dans le milieu B n'est pas complètement absorbé, comme on l'a déjà constaté précédemment, ce qui tient très vraisemblablement au fait que cette souche est plus gênée dans son développement par la réaction neutre du milieu, que les souches I et II.

Il résulte des expériences que nous venons de décrire que les trois souches de la levure Delft n'ont nullement perdu leur caractère spécial, mais que ce caractère se montre seulement dans les milieux contenant comme sucre du saccharose interverti. En présence de glucose, la levure Delft se comporte comme toutes les autres levures étudiées, qui sont favorisées dans leur développement par un milieu neutre.

Comment doit-on expliquer la manière spéciale de se comporter de la levure Delft dans les milieux contenant du saccharose interverti ?

On sait que les levures produisent des acides, qui peuvent gêner leur développement. Il est donc bien compréhensible que les levures étudiées se développent mieux dans les milieux, dans lesquels les

acides sont neutralisés par la craie au fur et à mesure qu'ils se produisent, fait signalé d'ailleurs déjà par Pasteur (46). On peut supposer que, si la levure Delft n'est pas gênée dans les milieux A, ou même est favorisée dans ce milieu, comme le cas se présente pour la souche III, c'est que cette levure ne produit pas tant d'acides ou bien qu'elle est habituée à des plus fortes acidités par sa culture prolongée dans des milieux acides. Dans le dernier cas, les acides n'exercent aucune action inhibitrice sur son développement ou même le favorisent.

La levure Delft produit-elle des acides ? La réponse à cette question est donnée par les expériences du paragraphe III de ce chapitre (p. 52) et par ce qui suit ici. On se rappelle que ces expériences ont été faites dans des milieux non additionnés de CaCl_2 . Nous avons procédé ainsi en vue de pouvoir doser la chaux entrée en solution grâce aux acides formés.

Il faut tenir compte évidemment du fait que l'acide carbonique formé peut dissoudre une partie de la craie sous forme de bicarbonate. La détermination de la chaux réellement dissoute par les acides formés se fait dès lors sur le liquide préalablement bouilli et filtré.

Les expériences du paragraphe III (p. 54) nous ont déjà appris que, dans les cultures de la levure Delft I de la série A (tableau XVIII et fig. 21), le pH a diminué, donc l'acidité a augmenté.

Ensuite, les cultures, après 54 jours d'étuve, ont été analysées en même temps que les flacons témoins. On a dosé alors la chaux dissoute par la méthode habituelle à l'oxalate d'ammoniaque. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau XXXVIII.

Il résulte de ces dosages que la levure Delft produit en effet des acides, quoique la quantité totale de ces acides soit moins grande que dans le cas de la levure Cramant.

(46) L. PASTEUR. — *Ann. de Chim. et Phys.*, (3^e Série), **52**, 404 ; 1858. — Voir *Œuvres de Pasteur*, réunies par PASTEUR VALLERY-RADOT, t. II, p. 3. Masson et C^{ie}, éditeurs, Paris, 1922.

TABLEAU XXXVIII

	Sucre consommé (gr.)	Chaux dissoute (mgr. CaO)
Cramant A.....	8,14	0
Cramant B.....	8,05	150,1
Levure Delft I A.....	8,14	0
Levure Delft I B.....	8,05	88,0
Témoin A.....	0	0
Témoin B.....	0	28,6

La manière spéciale dont la levure Delft se comporte ne peut donc pas être attribuée à une non production d'acides. Il faut croire que cette levure est habituée à supporter des acides. En effet, si l'on compare maintenant encore une fois les trois représentations graphiques figures 29, 30 et 31 (p. 72), on comprend pourquoi la souche III (fig. 31) s'est développée plus vite en milieu acide (comme dans le tableau XXX, p. 67), cette levure étant isolée à partir d'une levure industrielle hollandaise, qui avait été cultivée dans l'usine de Delft dans des milieux acides.

Le fait que la conduite spéciale de la levure Delft se montre seulement dans les milieux contenant du saccharose interverti et non pas dans les milieux contenant du glucose n'est pas encore expliqué.

CHAPITRE V

INFLUENCE DE L'OXYGÈNE

Les expériences précédentes ont été effectuées toutes dans des flacons, dans lesquels le liquide atteignait une hauteur assez grande. Dans ces conditions l'oxygène de l'air ne peut pénétrer que difficilement dans le milieu nutritif, de sorte que la levure agissant comme agent de la fermentation alcoolique est favorisée aux dépens de la levure agissant comme végétal. Or, l'oxygène est indispensable à la multiplication de la levure, fait connu depuis longtemps.

Comme nous avons déjà vu, l'absorption de phosphore par la levure est en relation avec la quantité de levure formée. Pour obtenir une plus grande absorption de phosphore, il faudrait ainsi favoriser la levure agissant comme végétal, c'est-à-dire favoriser la pénétration de l'air dans le milieu de culture.

A cet effet nous avons effectué des cultures dans des vases de différents modèles et nous avons comparé la culture dans les flacons ordinaires avec celle dans des fioles coniques (Erlenmeyer), où le même volume de liquide est étalé en couche mince, de sorte que l'oxygène peut plus facilement pénétrer dans le liquide.

Le milieu de culture est constitué par les mêmes substances que celui qui nous a servi pour les séries A des expériences du paragraphe IV du chapitre précédent. Le sucre fermentescible est donc du glucose. Pour ces expé-

riences nous avons employé la levure J de distillerie, avec laquelle nous avons fait nos premières expériences (chapitre III).

Les résultats que nous avons obtenus sont représentés dans les tableaux XXXIX et XL.

TABLEAU XXXIX

Flacons ordinaires

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	116,2	0	0,040	0	—
49	103,4	12,8	0,027	0,013	23,6
96	73,4	42,8	0,023	0,017	41,1
144	59,2	57,0	0,024	0,016	50,0
241	6,4	109,8	0,017	0,023	44,4

TABLEAU XL

Fioles coniques

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	116,2	0	0,040	0	—
49	104,8	11,4	0,015	0,025	63,1
96	66,2	50,0	0,013	0,027	78,2
144	40,0	76,2	0	0,040	129,5
241	0	116,2	0	0,040	129,6

La représentation graphique (fig. 32) correspond aux tableaux XXXIX et XL. Les résultats des flacons ordinaires (tableau XXXIX) sont indiqués par I et ceux des

fioles coniques (tableau XL) par II. On y voit que la vitesse avec laquelle le glucose disparaît est la même dans les deux séries. Mais on voit aussi que, dans les fioles coniques, il y a eu production de beaucoup plus

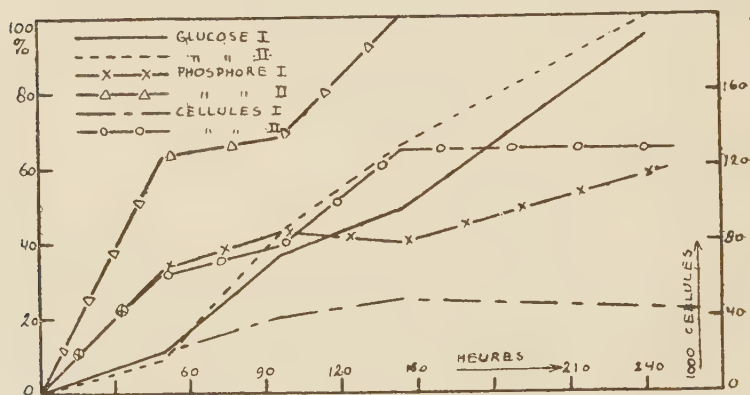


Fig. 32.

de cellules de levure que dans les flacons, de sorte que dans les fioles coniques il y a aussi beaucoup plus de phosphore consommé. Dans ces fioles tout le phosphore a été consommé, ce qui n'est pas le cas dans les fermentations effectuées dans les flacons ordinaires.

Ces expériences confirment ainsi le fait bien connu que la présence de grandes quantités d'air se traduit par un développement plus fort de la levure, tandis que, dans ces conditions, la fermentation n'est pas plus vigoureuse.

Evidemment, dans les fioles coniques, où le liquide se trouve étalé en couche mince, l'influence de l'oxygène est plus grande que dans les flacons ordinaires. Mais dans les fioles coniques, comme dans les flacons ordinaires d'ailleurs, l'acide carbonique, produit ultime de la fermentation alcoolique, reste longtemps dans le fond du récipient et empêche ainsi la pénétration de l'air. Dans les flacons Fernbach (fig. 33), où le liquide est également étalé en couche mince, l'acide carbonique produit

se dégage librement pendant la fermentation, de sorte que l'air est toujours renouvelé au-dessus du liquide.

Nous avons répété les expériences en comparant la culture dans des flacons ordinaires (couche épaisse) avec celle dans des flacons Fernbach (couche mince). Nous avons mis les mêmes volumes de liquide dans les flacons ordinaires et dans les flacons Fernbach. Nous donnons les résultats expérimentaux dans les tableaux XLI et XLII.

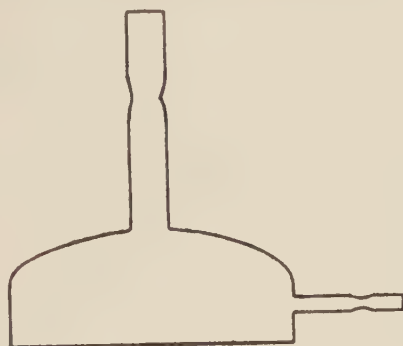


Fig. 33.

TABLEAU XLI

Flacons ordinaires

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	116,2	0	0,040	0	—
49	108,8	7,4	0,024	0,016	39,4
72	92,6	23,6	0,024	0,016	45,8
121	73,4	42,8	0,022	0,018	49,4
167	49,6	66,6	0,024	0,016	61,4

La représentation graphique correspondante est donnée dans la figure 34. Les flacons ordinaires y sont représentés par I et les flacons Fernbach par II. Les résultats sont comparables à ceux que nous avons signalés ci-dessus. La disparition du sucre dans les deux séries se fait à peu près avec la même vitesse. Dans les flacons Fernbach beaucoup plus de cellules sont produites que

TABLEAU XLII

Flacons Fernbach

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	116,2	0	0,040	0	---
49	---	---	---	---	---
72	98,4	17,8	0,013	0,027	93,4
121	---	---	---	---	---
167	60,4	55,8	0	0,040	116,0

dans les flacons ordinaires, de sorte que dans les flacons Fernbach le phosphore est consommé en plus grande

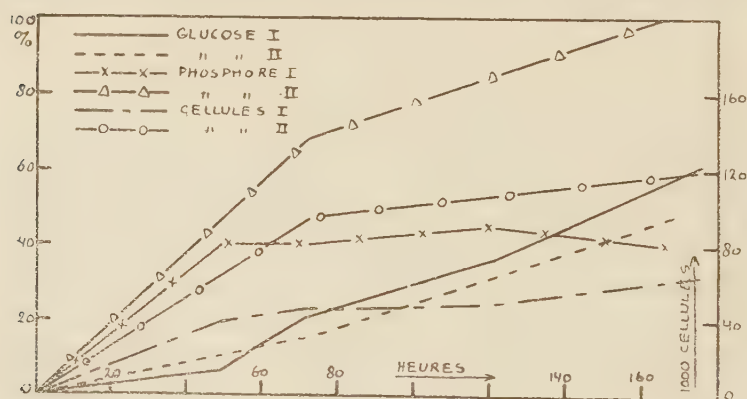


Fig. 34.

quantité. Donc l'influence de l'air se traduit ici encore par une récolte plus élevée et non par une fermentation plus active.

CHAPITRE VI

CULTURES DANS DES VASES DE DIFFÉRENTS MODÈLES. INFLUENCE DE L'AUGMENTATION DE LA QUANTITÉ DU PHOSPHORE

Comme nous l'avons dit dans l'introduction, le phosphore intervient quantitativement dans les fermentations provoquées par la zymase ou par les préparations de levure, contenant de la zymase, fait signalé par Harden et Young. On peut se demander si la récolte de la levure est aussi en relation avec la quantité de phosphore présente dans le milieu. Nous avons étudié cette question dans les expériences qui sont décrites dans ce chapitre.

Nous avons répété les expériences que nous avons décrites au commencement du chapitre précédent, dans des flacons et dans des fioles coniques, en présence de quantités croissantes de phosphates. Nous nous sommes servi de solutions de la composition suivante :

	A		B		C	
Eau de touraillons..	10	%	10	%	10	%
Glucose.....	15	%	15	%	15	%
Asparagine.....	0,3	%	0,3	%	0,3	%
PO ⁴ H(NH ⁴) ²	0,04	%	0,08	%	0,12	%

Dans ces trois milieux, nous avons cultivé la levure J de distillerie dans des flacons ordinaires (I) et dans des fioles coniques (II). Les résultats expérimentaux de ces cultures sont représentés dans les tableaux XLIII-XLVIII.

TABLEAU XLIII

Flacons ordinaires. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	138,2	0	0,110	0	—
48	107,6	30,6	0,090	0,020	46,0
119	29,8	108,4	0,083	0,027	56,3
167	0	138,2	0,081	0,029	61,1

TABLEAU XLIV

Flacons ordinaires. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	127,4	0	0,210	0	—
48	94,4	33,0	0,171	0,039	47,0
119	19,0	108,4	0,175	0,035	54,4
167	0	127,4	0,163	0,047	84,0

TABLEAU XLV

Flacons ordinaires. Série C

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	130,8	0	0,321	0	—
48	95,8	35,0	0,269	0,052	59,0
119	23,8	107,0	0,263	0,058	74,1
167	0	130,8	0,252	0,069	95,2

TABLEAU XLVI
Fioles coniques. Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	138,2	0	0,110	0	—
48	103,4	34,8	0,086	0,024	72,2
119	11,4	126,8	0,053	0,057	177,0
167	—	—	0,064	0,046	145,6

TABLEAU XLVII
Fioles coniques. Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	127,4	0	0,210	0	—
48	82,4	45,0	0,166	0,044	74,2
119	0	127,4	0,152	0,058	176,0
167	0	127,4	0,157	0,053	130,0

TABLEAU XLVIII
Fioles coniques. Série C

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	130,8	0	0,321	0	—
48	82,4	48,4	0,263	0,058	122,3
119	0	130,8	0,238	0,083	176,7
167	0	130,8	0,252	0,069	137,8

Les représentations graphiques (fig. 35-40) correspondent aux tableaux XLIII - XLVIII. Dans les figures 35, 36 et 37, qui représentent respectivement les résultats dans les flacons ordinaires et les fioles coniques pour les

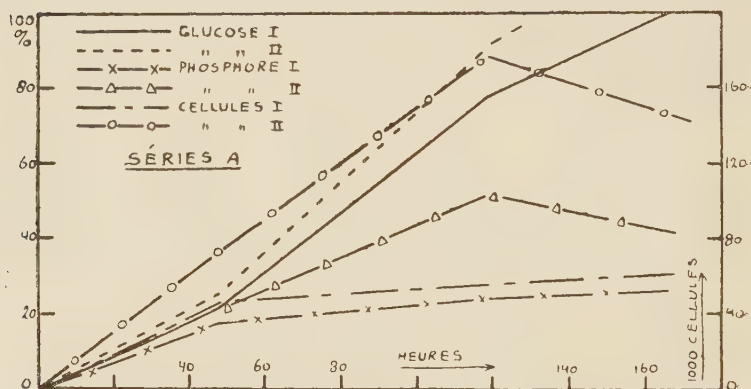


Fig. 35.

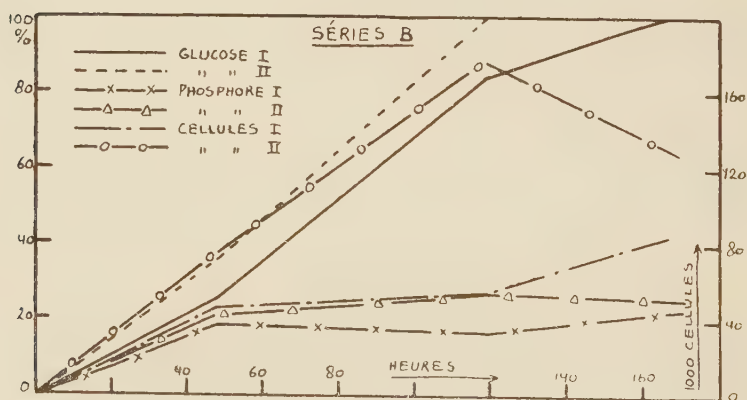


Fig. 36.

séries A, B et C, on voit de nouveau que l'influence de l'oxygène de l'air dans les fioles coniques (II) se traduit par une augmentation dans la récolte de levure, accompagnée bien entendu par une absorption plus grande de phosphore.

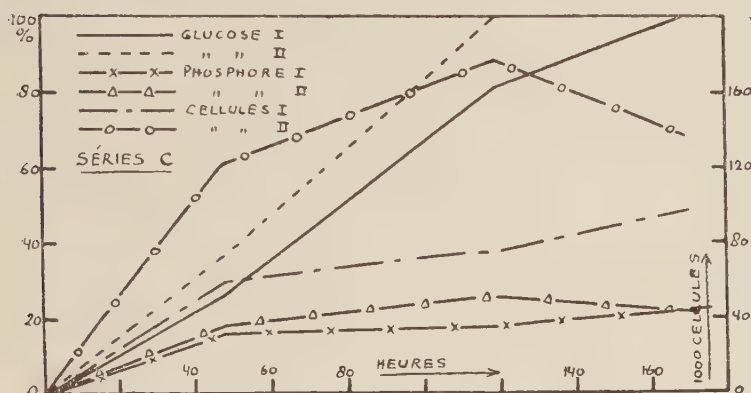


Fig. 37.

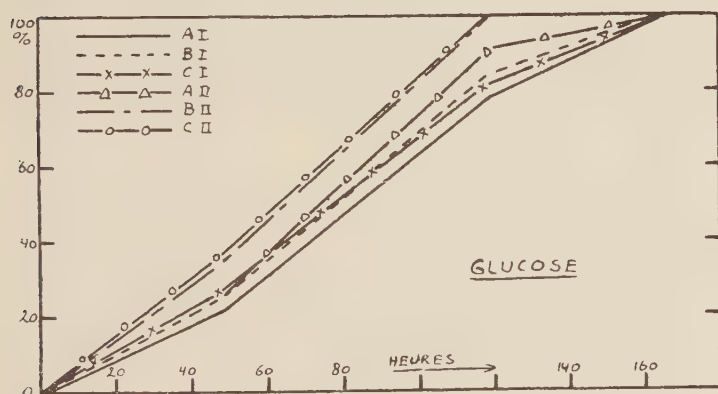


Fig. 38.

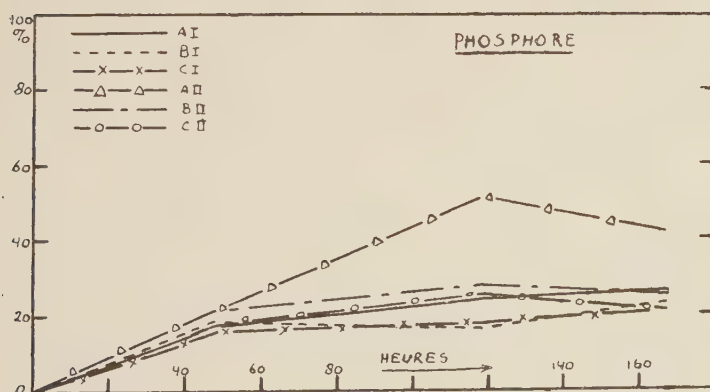


Fig. 39.

Dans les figures 38, 39 et 40 on trouve les valeurs pour le glucose, le phosphore et le nombre de cellules dans les deux vases et les trois milieux. La figure 38 montre que l'augmentation du phosphore n'augmente que très peu la vitesse avec laquelle le glucose disparaît. La figure 39 montre que l'absorption du phosphore en chiffres relatifs, rapportés à la quantité initiale de phosphore, est presque la même dans toutes les expériences (sauf dans la série A II). Comme les quantités initiales

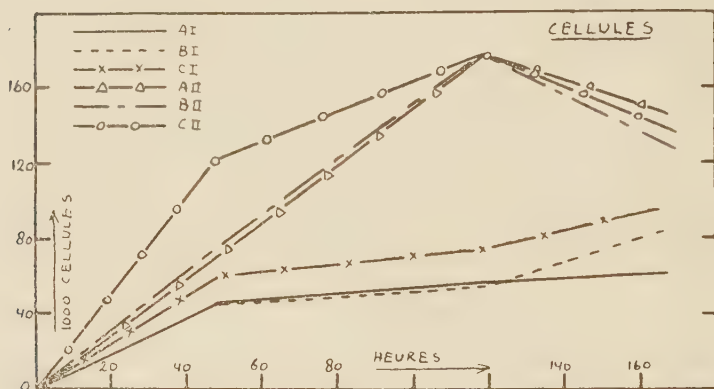


Fig. 40.

sont doublées dans la série B et triplées dans la série C, les quantités absolues du phosphore absorbé augmentent donc avec les doses initiales du phosphore offert. Toutefois les différences ne sont pas grandes (Voir les chiffres phosphore consommé dans les tableaux XLIII - XLVIII).

Dans la figure 40 on voit que les différentes concentrations de phosphates n'ont pas influencé dans la même proportion les récoltes de levure. Seule l'influence de l'oxygène de l'air est nettement visible.

Mais peut-être la levure cultivée dans des milieux riches en phosphates, est-elle plus active ? Si l'on admet que des quantités égales de levure dans les différents milieux consomment la même quantité de sucre pour

former leurs cellules, l'activité de la levure sera en rapport avec la quantité du glucose consommé. Une levure plus active fera alors disparaître le sucre plus vite qu'une levure moins active. On voit dans la figure 38 que s'il y a, en effet, une légère augmentation dans l'activité de la levure dans les milieux où il y a plus de phosphates, cette augmentation n'est nullement en rapport avec les concentrations en ces sels.

Donc l'augmentation soit de la récolte de levure, soit de son activité n'est pas directement proportionnelle aux quantités de phosphates offertes.

Il en est de même d'ailleurs, comme on le verra dans le chapitre IX, dans les fermentations déterminées par de grandes quantités de levure, c'est-à-dire par la levure qui ne se multiplie pas, mais qui agit exclusivement comme agent de la fermentation.

CHAPITRE VII

CULTURES DANS DES VASES DE DIFFÉRENTS MODÈLES. INFLUENCE DE L'AUGMENTATION DE LA QUANTITÉ DE L'AZOTE

Dans les expériences précédentes, nous avons étudié soit le rôle du phosphore seul, soit l'influence qu'exerce cet élément en même temps que l'oxygène de l'air. Or, on peut se demander si l'absorption du phosphore par la levure ne pourrait pas être augmentée quand on fait varier les quantités d'azote, présentes dans le milieu.

On se rappelle que « la récolte d'une plante dépend de la matière nutritive, qui se trouve dans le sol en quantité relativement petite, c'est-à-dire qui se trouve au minimum ». C'est la loi du *minimum*, formulée par Justus von Liebig (p. 8). Cette loi a une portée générale et elle peut être également appliquée au développement de la levure. Est-ce que dans les expériences que nous avons faites, l'azote ne se trouvait pas au minimum ? Dans ce cas, on le sait, une augmentation des concentrations des autres éléments nutritifs (comme par exemple du phosphore, ainsi que nous venons de le faire) ne peut augmenter la récolte de levure.

Afin d'étudier cette question, nous avons entrepris les recherches qui sont décrites dans le présent chapitre. Nous avons à cet effet composé deux milieux de culture, A et B, dont B contient le double de la quantité de phos-

phore présente dans A. Chacun de ces liquides nous a servi pour préparer trois milieux, contenant des quantités croissantes d'azote. Ainsi nous avons trois milieux de la série A et trois milieux de la série B, constitués de la façon suivante :

	A		A'		A''		B		B'		B''	
	10	%	10	%	10	%	10	%	10	%	10	%
Eau de touraillons .	15	»	15	»	15	»	15	»	15	»	15	»
Glucose.....	0,04	»	0,04	»	0,04	»	0,08	»	0,08	»	0,08	»
PO ⁴ H(NH ⁴) ²	—		0,2	»	0,4	»	—		0,4	»	0,8	»
Asparagine.....												

On voit que le rapport relatif entre P et N, sauf, bien entendu, le phosphore et l'azote contenu dans l'eau de touraillons, est le même dans A et B, ainsi que dans A' et B' et dans A'' et B''.

Nous avons ensemencé la levure J de distillerie, comme dans les expériences des chapitres V et VI. Les analyses ont toujours été effectuées de la même façon, mais ici nous avons également dosé l'azote d'après la méthode que nous avons décrite dans le paragraphe IV du chapitre II.

D'abord nous avons fait les expériences dans des flacons. Nous en donnons les résultats expérimentaux dans les tableaux XLIX - LIV.

TABLEAU XLIX

Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	135,2	0	0,104	0	0,180	0	—
48	111,2	24,0	0,089	0,015	0,148	0,032	29,6
94	91,6	43,6	0,088	0,016	0,092	0,088	31,0
168	92,0	43,2	0,091	0,013	0,084	0,096	42,0
240	95,8	39,4	0,087	0,017	0,072	0,108	45,7

TABLEAU L

Série A'

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	140,0	0	0,104	0	0,480	0	—
48	103,4	36,6	0,082	0,022	0,408	0,072	57,9
94	70,8	69,2	0,079	0,025	0,380	0,100	66,2
168	19,2	120,8	0,076	0,028	0,360	0,120	75,0
240	0	140,0	0,075	0,029	0,344	0,136	75,0

TABLEAU LI

Série A''

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	144,4	0	0,107	0	0,968	0	—
48	102,0	42,4	0,077	0,030	0,760	0,208	57,8
94	72,0	72,4	0,075	0,032	0,808	0,160	59,1
168	27,2	117,2	0,071	0,036	0,736	0,232	66,2
240	0	144,4	0,071	0,036	0,760	0,208	70,3

TABLEAU LII

Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	142,8	0	0,211	0	0,220	0	—
48	110,4	32,4	0,183	0,028	—	—	26,0
94	87,0	55,8	0,184	0,027	0,188	0,032	50,1
168	47,0	95,8	0,174	0,037	0,152	0,068	53,0
240	30,4	112,4	0,173	0,038	0,100	0,120	51,9

TABLEAU LIII

Série B'

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	139,0	0	0,211	0	0,996	0	—
48	108,4	30,6	0,170	0,041	—	—	35,6
94	77,4	61,6	0,164	0,047	0,972	0,024	51,3
168	35,6	103,4	0,162	0,049	0,956	0,040	55,3
240	0	139,0	0,150	0,061	0,928	0,068	56,3

TABLEAU LIV

Série B''

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	143,6	0	0,214	0	1,784	0	—
48	113,2	30,4	0,171	0,043	1,664	0,120	52,0
94	75,4	68,2	0,161	0,053	1,504	0,280	87,5
168	35,0	108,6	0,157	0,057	1,608	0,176	70,7
240	0	143,6	0,149	0,065	—	—	74,0

Les représentations graphiques correspondantes sont données dans les figures 41-44 ; elles indiquent respectivement les chiffres pour le glucose, le phosphore, l'azote et le nombre de cellules dans les six milieux. Dans la figure 41 on voit que, dans les séries A et B, le glucose n'a pas été consommé entièrement. On se rappelle que dans ces milieux le phosphate d'ammonium est la seule source d'azote, en dehors de ce qu'apporte l'eau de touraillons diluée. Dans les milieux additionnés d'asparagine (A', A'', B' et B'') tout le sucre a été con-

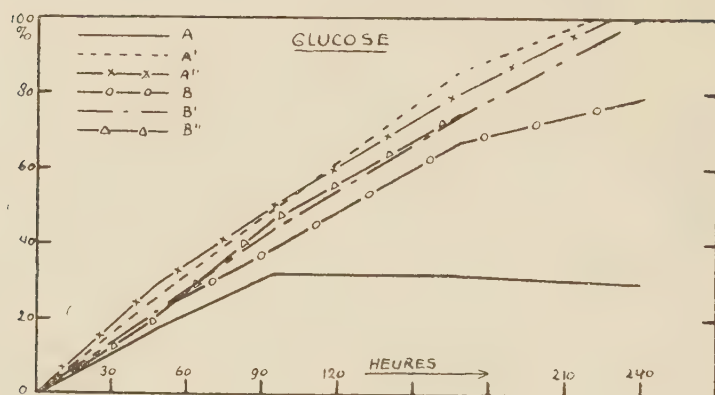


Fig. 41.

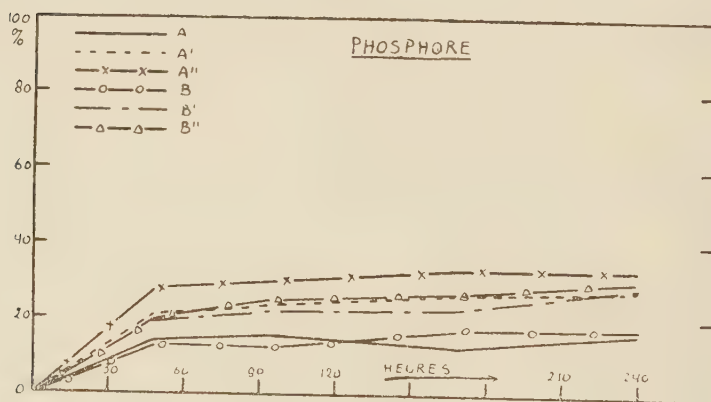


Fig. 42.

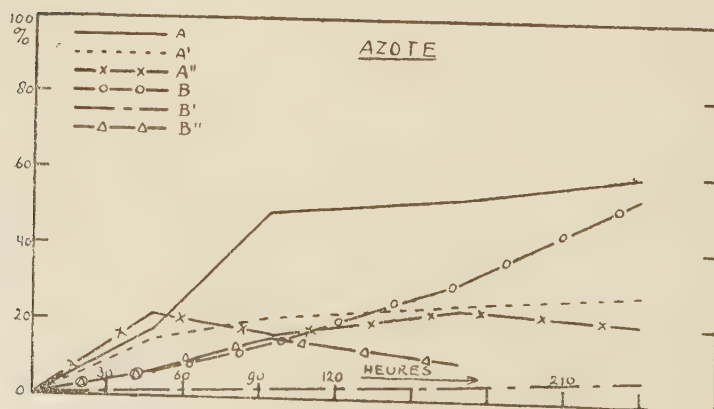


Fig. 43.

sommé. Dans les milieux A et B l'azote assimilable ne paraît donc pas avoir été présent en quantité suffisante.

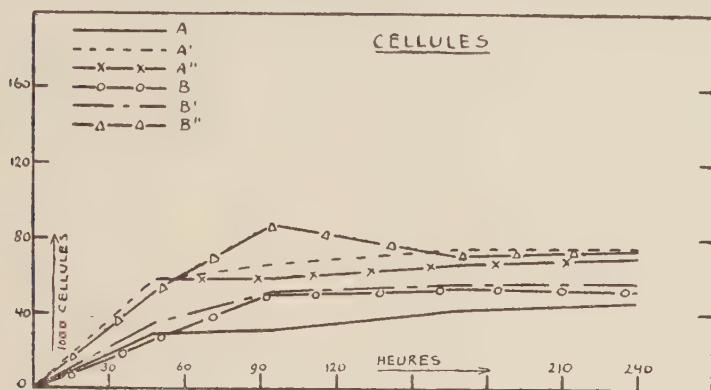


Fig. 44.

Le sucre a disparu avec une vitesse à peu près égale dans les séries A' et A'' et également dans les séries B' et B''. L'azote présent dans les séries A' et B' était donc en quantité suffisante.

La différence dans la consommation du glucose dans les séries A et B peut être expliquée par le fait que dans la série A il manquait également du phosphore : la série B contenait en effet le double de phosphate d'ammonium.

Dans la figure 42 on voit que, dans la série A'', la consommation du phosphore est plus intense que dans la série A' et dans celle-ci plus intense encore que dans la série A. Il en est de même dans les séries B, B' et B''. Ces différences peuvent assez bien être expliquées par les différentes quantités de cellules de levure produites (fig. 44).

La figure 43 donne, comme toujours, les quantités centésimales de l'azote consommé. En vue du fait que ces quantités varient d'une série à l'autre, il vaut mieux comparer les chiffres absolus, exprimés en milligrammes d'azote par centimètre cube, qu'on trouve dans les ta-

bleaux XLIX - LIV. Ainsi on verra que, dans la série A'', la consommation d'azote est plus intense que dans la série A' et dans celle-ci elle est plus intense encore que dans la série A. Il en est de même pour les séries B et B''. Les relations ici sont donc tout à fait analogues à celles que nous avons signalées pour le phosphore. On peut expliquer ce fait également par les différentes quantités de cellules de levure produites.

*
* * *

Nous avons répété les mêmes expériences avec les mêmes milieux et la levure J de distillerie, seulement cette fois-ci nous avons mis les liquides dans des fioles coniques, donc en couche mince. Les résultats de ces expériences sont résumés dans les tableaux LV - LX.

TABLEAU LV

Série A

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	140,0	0	0,104	0	0,092	0	—
48	117,2	22,8	0,090	0,014	—	—	45,1
94	67,2	72,8	0,081	0,023	0,092	0	67,4
144	24,2	115,8	0,081	0,023	0,040	0,052	81,8
192	16,0	124,0	0,083	0,021	0,032	0,060	77,8

TABLEAU LVI

Série A'

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	136,8	0	0,104	0	0,376	0	—
48	81,6	55,2	0,063	0,041	0,248	0,128	150,2
94	55,6	81,2	0,057	0,047	0,228	0,148	160,0
144	28,4	108,4	0,052	0,052	0,208	0,168	149,2
192	0	136,8	0,047	0,057	0,200	0,176	145,6

TABLEAU LVII

Série A''

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	135,2	0	0,104	0	0,772	0	—
48	45,6	89,6	0,053	0,051	0,500	0,272	154,7
94	0	135,2	0,053	0,051	0,540	0,232	164,4
144	0	135,2	0,054	0,050	0,588	0,184	147,0
192	0	135,2	0,053	0,051	0,580	0,192	138,9

TABLEAU LVIII

Série B

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	136,0	0	0,204	0	0,140	0	—
48	109,8	26,2	0,168	0,036	0,088	0,052	53,8
94	95,8	40,2	0,174	0,030	—	—	66,3
144	95,0	41,0	0,174	0,030	0,088	0,052	79,2
192	92,0	44,0	0,174	0,030	0,100	0,040	69,2

TABLEAU LIX

Série B'

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	141,4	0	0,203	0	0,980	0	—
48	85,8	55,6	0,147	0,056	0,740	0,240	92,3
94	61,8	79,6	0,143	0,060	0,772	0,208	122,2
144	4,4	137,0	0,154	0,049	0,788	0,192	108,1
192	0	141,4	0,152	0,051	0,780	0,200	99,6

TABLEAU LX

Série B''

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	138,2	0	0,207	0	1,456	0	—
48	87,0	51,2	0,151	0,056	1,320	0,136	101,3
94	59,2	79,0	0,144	0,063	—	—	109,6
144	—	—	0,141	0,066	—	—	101,8
192	0	138,2	0,138	0,069	—	—	123,7

Dans les figures 45-48 nous donnons les représentations graphiques correspondantes. Dans la figure 45, qui donne les résultats relatifs à la consommation du glucose, on voit que, dans les séries A et B, le sucre n'a pas été consommé entièrement. L'augmentation de la quantité de l'oxygène n'avait pas d'influence ici, évidemment parce que l'azote se trouve au *minimum*. On voit que le sucre a disparu plus vite dans A'' que dans A' et dans cette dernière série encore plus vite que dans A.

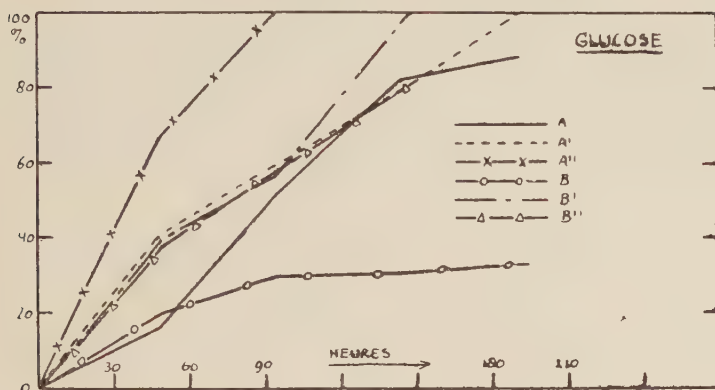


Fig. 45.

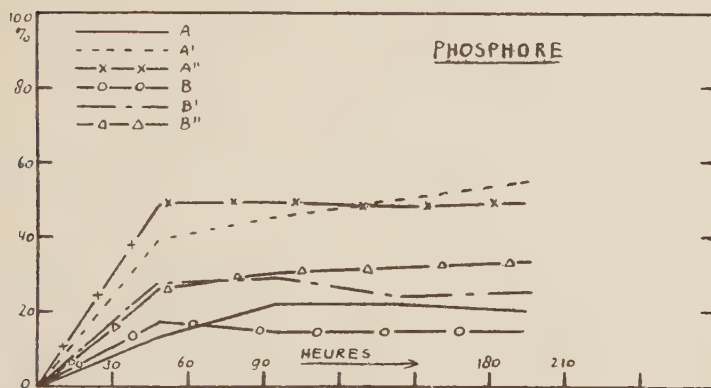


Fig. 46.

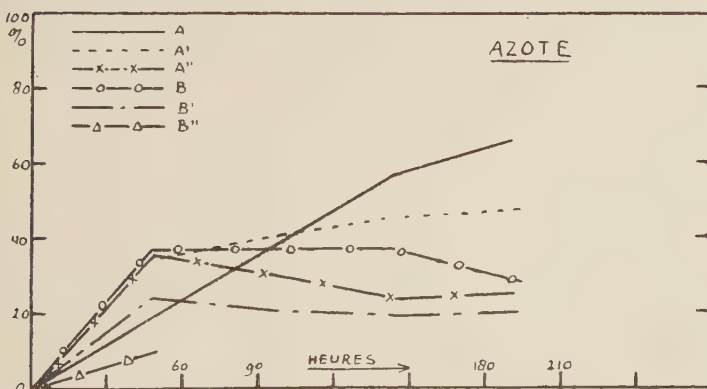


Fig. 47.

Dans les expériences précédentes en flacons ordinaires il n'y avait pas de différence entre la disparition du glucose dans A'' et A'. Dans les flacons l'oxygène était donc au minimum dans les séries A'' et A' et non pas le phosphore ou l'azote.

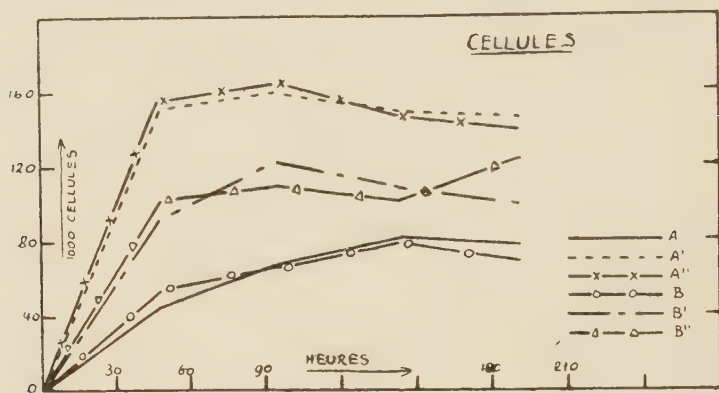


Fig. 48.

La consommation du glucose dans les séries B' et B'' s'est faite avec une vitesse à peu près égale. En effet, tandis que dans A' l'azote se trouvait encore au *minimum*, ce n'est plus le cas dans B'. Ici, ni l'azote ni le phosphore ne sont au minimum, de sorte qu'il n'y a plus de différence dans la vitesse de disparition du glucose entre B' et B''.

CHAPITRE VIII

INFLUENCE DE L'AUGMENTATION DE LA QUANTITÉ DE L'OXYGÈNE PAR AÉRATION

Dans le chapitre V nous avons décrit des expériences, dans lesquelles nous avons augmenté la quantité de l'oxygène, en ayant recours à des vases de différents modèles et nous avons comparé notamment la culture dans des flacons ordinaires, où le liquide se trouve en couche épaisse, avec celle dans des fioles coniques d'Erlenmeyer et dans des flacons Fernbach. Nous avons vu que l'influence de l'oxygène se traduit par une production plus élevée de cellules de levure et, par conséquent, une consommation plus intense de phosphore, tandis que la vitesse de la fermentation n'est pas influencée.

Nous avons voulu augmenter encore l'effet de l'oxygène, et c'est pourquoi nous avons cultivé la levure dans des ballons, où nous pouvions aérer pendant la fermentation. On sait que l'effet de l'aération dépend dans une large mesure de la grandeur des bulles d'air, qui traversent le liquide. Plus ces bulles sont petites, plus grande est leur surface totale et plus l'aération est effective. A cet effet nous avons fait passer l'air au travers d'une matière poreuse. Nous nous sommes servi de ballons à aération, décrits par A. J. Kluyver, H. J. L. Donker et F. Visser 't Hooft (47), munis de plaques

(47) A. J. KLUYVER, H. J. L. DONKER et F. VISSER 'T HOOFT. — *Biochem. Zeitschr.*, **161**, 361 ; 1925.

filtrantes en verre d'Iéna et livrés par Schott et Gen. à Iéna (fig. 49). La plaque filtrante A, qui se trouve dans

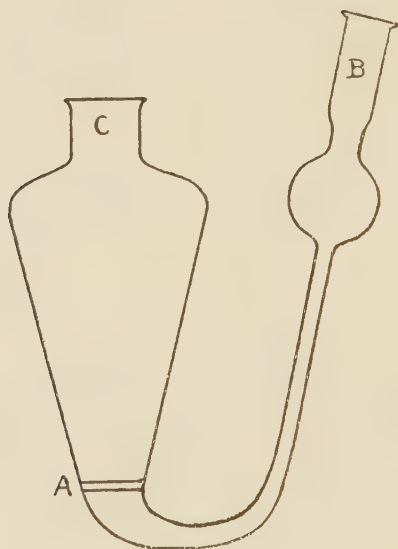


Fig. 49.

le fond du ballon, est soudée aux parois. Le tube B porte un filtre à air en coton et on ferme l'ouverture C également avec du coton. On stérilise l'appareil, contenant le milieu de culture, à l'autoclave en le plaçant dans un support convenable. L'aération peut être effectuée en introduisant de l'air comprimé par B (*).

I. — *Levure J de distillerie*

Le ballon à aération renferme 500 cm³ d'un milieu ayant la composition suivante :

(*) Dans ces essais nous avons négligé la concentration éventuelle du liquide à la suite de l'évaporation ; celle-ci est, d'ailleurs, de peu d'importance dans les conditions de nos expériences.

Eau de touraillons	10	%
Glucose	15	%
PO ⁴ H(NH ⁴) ²	0,08	%
Asparagine	0,3	%

Nous avonsensemencé avec la levure J de distillerie, et nous avons cultivé à une température de 25° C. Chaque jour nous avons aéré le liquide pendant plusieurs heures, le matin et l'après-midi. De temps à autre nous avons retiré stérilement un échantillon pour déterminer les quantités de sucre, de phosphore et d'azote, restant dans le milieu, et le nombre des cellules de levure formées. Les résultats de ces analyses sont représentés dans le tableau LXI.

TABLEAU LXI

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	130,2	0	0,199	0	0,668	0	—
24	125,0	5,2	0,180	0,019	0,660	0,008	11,7
48	94,4	35,8	0,159	0,040	0,580	0,088	116,3
72	66,6	63,6	0,152	0,047	0,580	0,088	118,2
120	20,4	109,8	0,138	0,061	0,548	0,120	214,8
144	3,8	126,4	0,146	0,053	0,544	0,124	219,6
168	0	130,2	0,146	0,053	0,492	0,176	221,1

La représentation graphique correspondante est donnée dans la figure 50. On y voit le rapport entre la consommation du sucre, du phosphore et de l'azote et l'augmentation des cellules. Si l'on compare les résultats de cette expérience avec ceux de l'expérience faite dans des fioles coniques avec le même milieu (tableau LIX), on voit que l'effet d'une aération plus intense se traduit par un développement encore plus fort de la levure, mais la consommation de phosphore n'est guère plus intense.

La vitesse de la fermentation n'est pas influencée sensiblement.

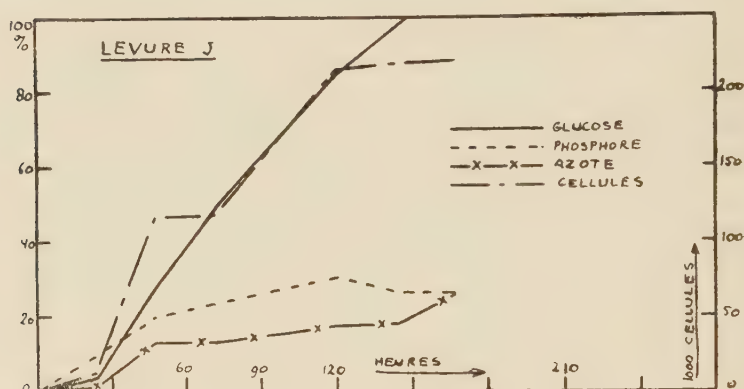


Fig. 50.

II. — *Levure Delft II*

Nous avons repris cette expérience avec la levure Delft II, que nous avons cultivée dans des ballons à aération dans les milieux B' et B'' du chapitre VII.

	I	II
Eau de touraillons	10 %	10 %
Glucose.....	15 %	15 %
$\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)^2$	0,08 %	0,08 %
Asparagine	0,4 %	0,8 %

Le milieu II contient donc le double d'asparagine. Les expériences ont été effectuées comme dans le paragraphe précédent. Nous avons déterminé cette fois-ci également le pH. Les résultats sont résumés dans les tableaux LXII et LXIII.

TABLEAU LXII

I

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³	pH
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	133,0	0	0,203	0	0,872	0	—	6,2
48	124,4	8,6	0,196	0,007	0,848	0,024	24,4	—
72	117,0	16,0	—	—	0,816	0,056	42,2	—
120	102,0	31,0	0,194	0,009	0,792	0,080	40,0	3,3
192	101,4	31,6	0,200	0,003	0,824	0,048	37,0	3,5

TABLEAU LXIII

II

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³	pH
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	134,6	0	0,210	0	1,704	0	—	6,2
48	114,0	20,6	—	—	1,472	0,232	24,8	—
72	112,6	22,0	0,192	0,018	1,488	0,216	55,2	—
120	102,0	32,6	0,189	0,021	1,552	0,152	67,4	3,6
192	97,2	37,4	0,195	0,015	1,536	0,168	49,3	3,7

On voit que les milieux de culture ont été peu favorables pour cette levure, de sorte que seule une fraction peu importante du sucre a été fermentée. La production des cellules de levure est restée d'ailleurs très faible et par conséquent également l'absorption du phosphore. Nous avons supposé que l'asparagine, source principale d'azote dans ces milieux, pourrait être moins favorable pour la levure Delft II, contrairement à ce que nous avons vu pour la levure J de distillerie. C'est pour-

quoi que nous avons répété ces expériences dans des milieux contenant 50 % d'eau de touraillons au lieu de 10 %, donc contenant plus d'azote provenant de l'eau de touraillons. En même temps nous n'avons donné que 7,5 % de glucose ; aussi la série II a reçu moins d'asparagine. Les résultats de ces expériences sont résumés dans les tableaux LXIV et LXV.

TABLEAU LXIV

I

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³	pH
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	74,6	0	0,275	0	0,904	0	—	6,2
48	1,2	73,4	0,174	0,101	0,544	0,360	129,6	3,1
96	0	74,6	0,195	0,080	0,520	0,384	128,1	3,6

TABLEAU LXV

II

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Mgr. azote par cm ³		Milliers de cellules par mm ³	pH
	rest.	cons.	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	75,2	0	0,275	0	1,160	0	—	6,2
48	2,4	72,8	0,173	0,102	0,740	0,420	84,1	3,2
96	0	75,2	0,199	0,076	0,716	0,444	84,1	3,6

Les milieux ainsi constitués se sont montrés beaucoup plus favorables, de sorte que dans 48 heures presque tout le sucre avait disparu. On voit que dans le milieu II, où il y avait plus d'asparagine que dans I, il y a moins de

cellules formées. On peut donc croire que l'asparagine est en effet pour la levure Delft II moins favorable comme aliment azoté que pour les autres levures (*). Toutefois une pareille conclusion aurait besoin d'être confirmée par de nouvelles expériences.

On voit qu'après 96 heures le milieu s'enrichit à nouveau en phosphore. Cette augmentation du phosphore dans le milieu est accompagnée d'une augmentation du pH . Sans pouvoir donner une explication définitive de ce fait, on pourrait admettre que le phosphore revient dans le milieu sous la forme de phosphate neutre, ce qui expliquerait l'alcalinisation du milieu. Ce fait est à rapprocher d'une observation due à A. Fernbach et D. Triandafil (49) relative au changement de la réaction du milieu vers la fin de la fermentation.

(*) D'après A. Tait et L. Fletcher (48), l'asparagine est peu favorable comme source d'azote.

(48) A. TAIT et L. FLETCHER. — *Journ. Inst. of Brewing*, **28**, 597 ; 1922.
— *Ibidem*, **29**, 509 ; 1923.

(49) A. FERNBACH et D. TRIANDAFIL. — *C. R. Soc. de biol.*, **90**, 912 ; 1924.

B. — LE RÔLE DU PHOSPHORE DANS LA FERMENTATION PAR LA LEVURE VIVANTE

CHAPITRE IX

FERMENTATION PAR LA LEVURE EN QUANTITÉ ÉLEVÉE

I. — *Levure de Cramant*

Dans l'introduction nous avons exposé les raisons pour lesquelles il fallait étudier le rôle du phosphore dans la fermentation par de grandes quantités de levure, où le développement de la levure n'intervient pas. En effet, dans les expériences que nous avons effectuées jusqu'à présent deux phénomènes se superposaient : le développement de la levure, où celle-ci agit comme végétal, et la fermentation, où la levure agit comme agent de la fermentation alcoolique.

D'autre part, A. Harden et W. J. Young ont fait voir que, pendant la fermentation par le suc de levure ou par les préparations de levure sèche, en présence de phosphates minéraux, les phosphates ajoutés interviennent *quantitativement* dans le processus de la fermentation. Il y a notamment une augmentation dans la vitesse de la fermentation, et la quantité d'acide carbonique dégagé est en rapport direct avec la quantité du phosphate ajouté. Le même phénomène se produit-il lorsque la

fermentation est déterminée par de grandes quantités de levure vivante ?

Les expériences suivantes vont nous donner la réponse à cette question.

Afin de pouvoir disposer de plusieurs grammes d'une levure, cultivée en culture pure sur un milieu solide, nous nous sommes servi des boîtes métalliques de Nicolle (50). Comme milieu nutritif nous nous sommes servi du moût de bière gélosé, contenant 4 % de gélose.

Nous avons récolté sur deux boîtes 22 grammes de levure Cramant. Cette quantité de levure a été mise en suspension dans 100 cm³ d'une solution physiologique de sel marin et ensuite nous avons divisé ce liquide en deux portions, qui ont été ajoutées à 500 cm³ des deux solutions dont nous donnons la composition ci-après.

	I		II	
Eau de touraillons	10	%	10	%
Glucose	10	%	10	%
PO ⁴ H(NH ⁴) ²	0,01	%	0,04	%
Asparagine	0,3	%	0,2	%

La fermentation a été effectuée à une température de 25°. Pour les analyses, nous avons chaque fois filtré une partie du liquide en fermentation, après avoir bien agité. Nous avons déterminé les quantités de sucre et de phosphore restant dans les liquides et les pH. En voici les résultats (tableaux LXVI et LXVII).

TABLEAU LXVI

I

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	90,4	0	0,035	0	4,9
1 3/4	89,0	1,4	0,030	0,005	4,4
3 3/4	83,0	7,4	0,021	0,014	4,2
5 3/4	78,0	12,4	0,010	0,025	3,6
7 3/4	67,4	23,0	0	0,035	3,5
22 3/4	32,0	58,4	0	0,035	3,1
29 3/4	9,8	80,6	0	0,035	3,1
46 1/2	0	90,4	0	0,035	3,4
94 1/4	0	90,4	0	0,035	3,4
118 3/4	0	90,4	0,005	0,030	3,4
147	0	90,4	0,006	0,029	3,4
191 1/2	0	90,4	0,011	0,024	3,6
263 1/2	—	—	0,017	0,018	3,6
484	—	—	0,029	0,006	—

TABLEAU LXVII

II

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		pH
	rest.	cons.	rest.	cons.	
0	94,0	0	0,099	0	5,0
1 3/4	88,4	5,6	0,087	0,012	4,8
3 3/4	82,4	11,6	0,077	0,022	4,3
5 3/4	74,4	19,6	0,065	0,034	3,8
7 3/4	63,8	30,2	0,050	0,049	3,3
22 3/4	32,6	61,4	0,047	0,052	3,1
29 3/4	14,6	79,4	0,044	0,055	3,1
46 1/2	0	94,0	0,044	0,055	3,1
94 1/4	0	94,0	0,047	0,052	3,2
118 3/4	0	94,0	0,051	0,048	3,3
147	0	94,0	0,054	0,045	3,4
191 1/2	0	94,0	0,061	0,038	3,5
263 1/2	—	—	0,070	0,029	3,5
484	—	—	0,089	0,010	—

La figure 51 nous donne la représentation graphique de ces expériences. On voit que la vitesse de la fermentation n'a pas été influencée notablement par l'augmentation de la concentration en phosphore. En ce qui concerne la disparition du phosphore dans les deux milieux les expériences montrent que, dans la série II 0,055 mgr. de phosphore par cm^3 , soit 55 % a disparu, tandis que dans la série I, qui ne contenait que 0,035 mgr. de phosphore par cm^3 , la totalité a disparu.

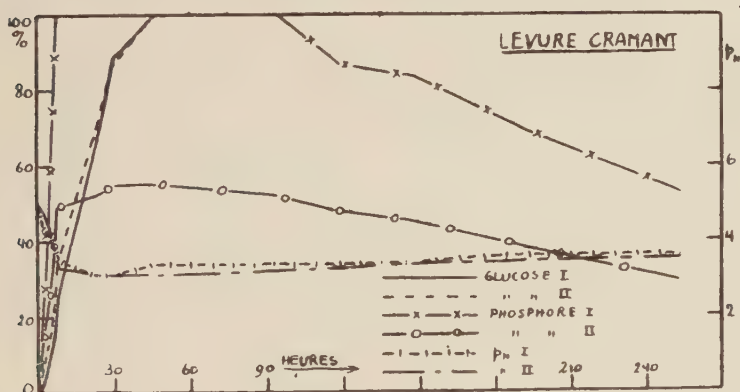


Fig. 51.

Il ressort en outre de ces expériences que, au fur et à mesure que la fermentation continue, on assiste à la réapparition du phosphore dans le milieu. Dans le milieu I après 484 heures on retrouve 82,9 % du phosphore et dans le milieu II 89 %.

II. — *Levure Delft I*

Nous avons répété les mêmes expériences avec la levure Delft I, également cultivée sur les boîtes de Nicolle. Sur deux boîtes nous avons obtenu 20 grammes de levure. Les résultats sont représentés dans les tableaux LXVIII et LXIX.

TABLEAU LXVIII

I

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³	pH
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	84,0	0	0,031	0	164,0	4,7
2 1/4	82,4	1,6	0,027	0,004	—	4,4
4 1/4	74,0	10,0	0,017	0,014	—	4,1
6 1/4	74,6	9,4	0	0,031	—	3,6
8 1/4	63,8	20,2	0	0,031	—	3,4
23 1/4	28,0	56,0	0	0,031	—	3,2
29 3/4	12,0	72,0	0	0,031	—	3,2
51 1/2	0	84,0	0	0,031	—	3,4
96	0	84,0	0	0,031	—	3,6
168	—	—	0,007	0,024	195,2	3,7
268 1/2	—	—	0,019	0,012	—	3,9
388	—	—	0,028	0,003	—	—

TABLEAU LXIX

II

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³		Milliers de cellules par mm ³	pH
	rest.	cons.	rest.	cons.		
0	87,4	0	0,087	0	169,0	5,0
2 1/4	82,0	5,4	0,081	0,006	—	4,7
4 1/4	78,0	9,4	0,074	0,013	—	4,4
6 1/4	74,8	12,6	0,060	0,027	—	4,0
8 1/4	62,4	25,0	0,044	0,043	—	3,4
23 1/4	27,8	59,6	0,038	0,049	—	3,1
29 3/4	16,2	71,2	0,035	0,052	—	3,1
51 1/2	0	87,4	0,033	0,054	—	3,2
96	0	87,4	0,036	0,051	—	3,5
168	—	—	0,048	0,039	190,0	3,6
268 1/2	—	—	0,073	0,014	—	3,8
368	—	—	0,089	—	—	—

Les résultats obtenus avec la levure Delft I sont analogues à ceux qu'a fournis la levure Cramant, ainsi que le montre la figure 52, et il en résulte que la fermentation n'est pas favorisée par des concentrations plus grandes en phosphore.

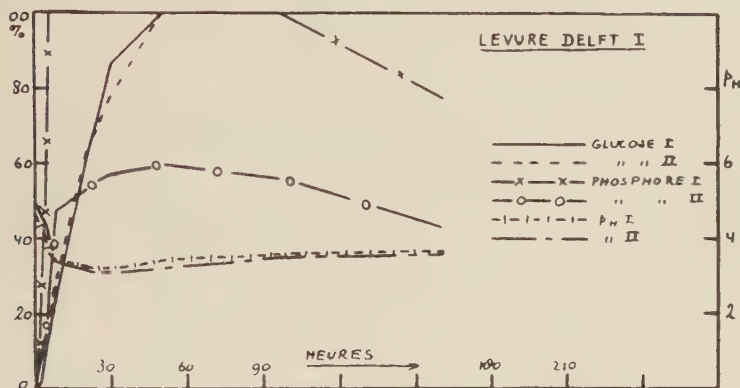


Fig. 52.

On a vu que pendant la fermentation une petite quantité de phosphore disparaît, pour réapparaître dans le milieu vers la fin de la fermentation. C'est là un phénomène, on le verra plus loin, qui se rapproche de ce qu'on observe dans les fermentations déterminées par le suc de levure ou par les préparations de levure sèche. Cependant, les quantités de phosphore, qui sont transformées en éthers phosphoriques par la zymase, extraite de la cellule de levure, sont beaucoup plus élevées que la petite quantité qui a disparu dans les expériences que nous venons de décrire. On ne peut guère admettre qu'il s'agisse ici d'une phosphorylation. La faible consommation est due à une légère augmentation du nombre de cellules (v. tableaux LXVIII et LXIX) et cette consommation se fait dès le commencement de la fermentation, malgré l'ensemencement massif.

Nous pouvons donc dire que le phosphore n'intervient pas *quantitativement* dans la fermentation, dé-

terminée par la levure vivante, comme le cas se présente dans la fermentation, déterminée par la zymase, extraite de la cellule de levure (*). Nous n'avons donc pu confirmer les observations de V. Bermann et E. Kulp, qui, d'après une communication préliminaire (51) auraient obtenu une phosphorylation par la levure vivante.

(*) On se rappelle que H. Elion (*loc. cit.* 21) a signalé une certaine action stimulante qu'exercent les phosphates monopotassique et diammonique sur la fermentation par la levure vivante. En effet, cet auteur a observé que, pendant les deux premières heures de la fermentation, il se produit beaucoup plus d'acide carbonique dans une solution de sucre additionnée des deux phosphates que dans une solution exempte de phosphates. Quoique nous ayons travaillé dans d'autres conditions, cette observation se trouve confirmée par nos essais, dans ce sens du moins que, ici également, le phosphore augmente la vitesse initiale de la fermentation, mesurée par la quantité du glucose disparu. Mais si l'on prolonge l'expérience, on voit qu'il n'y a aucune proportionnalité entre la vitesse de la fermentation et la quantité de phosphore présente dans le milieu (V. les tableaux LXVI - LXIX).

(51) V. BERMAN et E. KULP. — *Wochenschr. f. Brauerei*, **42**, 39 ; 1925.

C. — LE RÔLE DU PHOSPHORE DANS LA FERMENTATION PAR DES PRÉPARATIONS DE LEVURE

CHAPITRE X

LA LEVURE DÉPOUILLÉE DE SA MEMBRANE

On se rappelle que Harden et Young admettent que la fermentation alcoolique est nécessairement liée au phénomène de la phosphorylation, c'est-à-dire que toute fermentation est accompagnée de production d'éthers phosphoriques. Mais comme, avec la levure vivante, on n'a pas encore pu démontrer la production des hexosephosphates, on admet que, dans ce cas, la phosphorylation se fait dans l'intérieur de la cellule. Il s'ensuit que les parois des cellules sont perméables pour les phosphates minéraux, mais pas pour les éthers phosphoriques.

Nous nous sommes demandé s'il ne serait pas possible d'aborder ce problème en se servant d'un procédé permettant de dépouiller la levure de sa membrane. C'est là précisément une méthode employée par J. Giaja. Cet auteur (52, 53, 54, 55) soumet la levure à l'action des

(52) J. GIAJA. — *C. R. Soc. de biol.*, 77, 2 ; 1914.

(53) J. GIAJA. — *C. R. Soc. de biol.*, 82, 719 ; 1919.

(54) J. GIAJA. — *C. R. Soc. de biol.*, 86, 708 ; 1922.

(55) J. GIAJA. — *Journ. Physiol. et Pathol. générale*, 18, 1094 ; 1919-1920.

diastases contenues dans le suc digestif (suc hépato-pancréatique) de l'escargot, *Helix pomatia*, et il a pu constater que la membrane de la cellule de levure est dissoute sous l'influence de ces diastases.

Giaja indique qu'on peut observer facilement la disparition de la membrane sans avoir recours à aucune coloration. Ainsi une levure autolysée en présence de toluène ne semble contenir dans son intérieur que quelques granulations, de telle façon que la membrane apparaît très nettement. Lorsqu'on fait agir sur cette levure du suc d'*Helix*, après un certain temps on ne distingue plus de cellules au microscope, mais on voit libres les granulations qui étaient auparavant incluses dans les cellules.

La levure dépouillée de sa membrane posséderait, d'après Giaja, un pouvoir fermentatif très voisin de celui de la levure normale ; ce pouvoir cependant diminue après quelque temps de conservation.

Fait important, le suc d'escargot ne possède aucun pouvoir protéolytique, de telle sorte qu'on peut, à l'aide de ce suc, débarrasser le globule de levure de sa membrane, sans que le contenu en soit désorganisé (*).

Les expériences que nous avons faites avec le suc digestif de l'escargot de Bourgogne (*Helix pomatia*) ont toutes été effectuées pendant les mois d'hiver. Pendant cette période, les escargots ne prenaient donc pas de nourriture. Afin de les faire sortir des coquilles on a mis les escargots pendant quelque temps dans de l'eau. Nous avons trouvé régulièrement dans le jabot des quantités considérables d'un suc rouge foncé. C'est ce

(*) On trouve des renseignements intéressants relatifs au suc d'escargot dans W. BIEDERMANN et P. MORITZ (56), H. BIERRY et J. GIAJA (57), P. KARRER et H. ILLING (58).

(56) W. BIEDERMANN et P. MORITZ. — *Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiol.*, **73**, 219 ; 1898.

(57) H. BIERRY et J. GIAJA. — *C. R. Soc. de biol.*, **58**, 945 ; 1906.

(58) P. KARRER et H. ILLING. — *Zsigmondy Festschrift*, Ergänzungsband zu Bd 36 der *Kolloid-Zeitschr.*, p. 91, 1925.

suc que nous avons recueilli, en ayant soin de ne pas le diluer.

Des expériences préliminaires avaient fait voir, en effet, qu'il fallait utiliser le suc rouge tel quel, car toute dilution diminuait considérablement son action.

En nous servant du suc digestif, tel que nous l'avons retiré des jabots d'un certain nombre d'escargots de Bourgogne et en faisant agir ce suc à une température de 36° C. sur de la levure, cultivée sur un milieu solide, nous avons d'abord pu constater les phénomènes décrits par Giaja.

Si l'on met une quantité de levure (par exemple la levure Springer ou la levure Delft I), cultivée en culture pure sur un milieu solide, dans le suc digestif et si l'on garde le mélange à une température de 36° on peut constater déjà après 24 heures que la plupart des cellules ont perdu leur membrane.

Dans la figure 53 nous donnons une microphotographie (*), prise sur fond noir, où l'on trouve toutes les phases de ce curieux phénomène. Nous avons mélangé un peu de levure, levure Delft I, cultivée sur du moût de bière gélifié, avec du suc digestif et après un séjour du mélange de 48 heures à une température de 36° nous avons choisi un endroit où il y avait en même temps des cellules encore intactes et des cellules dépouillées de la membrane, ainsi que des granulations libres. Quoique l'image qu'on observe au microscope soit beaucoup plus nette qu'une photographie, on peut tout de même distinguer les différentes phases dans la figure 53. Les cellules 1 et 2 sont encore normales et on distingue facilement les membranes et la structure granuleuse de l'intérieur de la cellule. Les cellules 3, 4 et 5 ne sont plus intactes et on voit que des parties des membranes sont déjà dissoutes. La cellule 6 est complètement dépouillée de sa membrane, mais on peut encore distinguer la

(*) Nous devons cette photographie à l'obligeance de M. P. Jeantet, de l'Institut Pasteur de Paris.

forme de la cellule. Il en est de même avec la cellule 7. Mais le phénomène ne s'arrête pas ici et aussi la forme des cellules disparaît, comme le montrent les masses granuleuses 8 et 9. Ensuite on ne retrouve que des granulations libres (10, 11 et 12). Il est à noter qu'il est assez difficile d'obtenir une bonne photographie des granulations libres, celles-ci étant très petites.

En général, après 48 heures, on ne retrouve presque plus de cellules normales et on ne voit que les granulations libres ou les masses granuleuses.

Dans une première expérience, nous avons utilisé 10 cm³ de suc digestif. La moitié de ce liquide a été conservé tel quel comme témoin, dans le reste nous avons mis 11 grammes de levure Delft I et nous avons placé les deux liquides à 36° C. Après 48 heures, la levure était presque complètement dépouillée de sa membrane et la masse était devenue moins visqueuse.

Nous avons divisé la levure dépouillée de membrane en deux portions, ainsi que le suc témoin et nous avons introduit chacune de ces portions dans 50 cm³ d'une solution, contenant 20 % de glucose et 2 % de phosphate de potassium (*).

Nous avons mis les liquides dans l'étuve à 25° et nous avons déterminé de temps à autre les quantités de sucre réducteur et de phosphore restant dans les liquides. Les résultats des dosages sont réunis dans le tableau LXX.

(*) Nous avons employé un mélange de phosphates monopotassique et dipotassique, de sorte que nous avions une solution d'un $pH = 6,0$. D'après Euler et Nordlund (59) l'optimum du pH pour la synthèse d'hexosephosphates, que nous voulons étudier ici, serait de $pH = 6,2$ à $6,6$.

(59) H. VON EULER et F. NORDLUND. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **116**, 229 ; 1921.

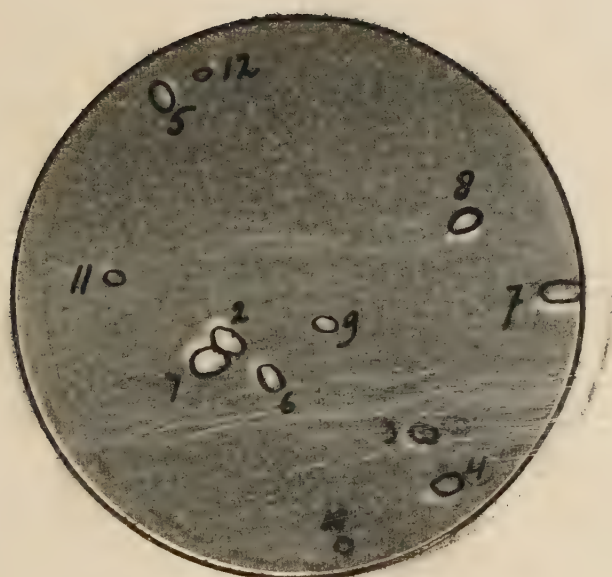


Fig 53.

TABLEAU LXX

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	levure	suc témoin	levure	suc témoin
0	170,8	188,0	3,609	4,138
1	168,0	186,8	3,582	3,840
3 1/4	157,2	174,8	3,750	3,750
5 3/4	154,8	177,6	3,934	4,000
23 1/2	103,6	169,6	3,902	3,721
30	77,2	172,8	3,934	3,721

Il résulte de ces expériences que la levure dépouillée de sa membrane, fait fermenter le sucre avec une vitesse appréciable, mais le phosphate minéral ne disparaît nullement, aucune phosphorylation n'a donc lieu.

Une deuxième expérience faite dans des conditions absolument identiques a donné un résultat analogue.

On peut se demander si la levure Delft I sous forme de suc de levure ou de levure tuée, telle que la zymine, est capable de produire de l'hexosephosphate ; ou est-ce que les préparations de cette levure sont déjà inactives par elles-mêmes ? Dans ce dernier cas il serait naturellement inutile de chercher la phosphorylation avec cette levure, dépouillée de sa membrane.

D'après la méthode de Albert, Buchner et Rapp (60) nous avons préparé de la zymine, c'est-à-dire de la levure traitée à l'acétone et à l'éther, avec la levure de boulangerie de la « Nederlandsche Gist- en Spiritus-fabriek » à Delft, donc avec la levure Delft. Dans 50 cm³ d'une solution à 20 % de glucose et à 2 % de phosphate de potassium ($pH = 6,0$) nous avons mis 4 grammes de cette zymine, nous avons ajouté un peu de toluène comme antiseptique et nous avons mis le liquide dans

(60) R. ALBERT, E. BUCHNER et R. RAPP. — *Ber. d. deutsch. chem. Ges.* 35, 2376 ; 1902.

l'étuve à 25°. De temps à autre nous avons dosé les quantités de sucre réducteur et de phosphore restant dans le liquide. Les résultats de ces dosages sont représentés dans le tableau LXXI.

TABLEAU LXXI

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³	Mgr. phosphore par cm ³
0	169,6	4,444
6	161,2	1,104
23	140,8	0,857

Il résulte de cette expérience que la zymine est très active comme agent de phosphorylation. En 6 heures 3,340 mgr. de P par cm³ ont été transformés en éthers phosphoriques.

Il reste donc à expliquer pourquoi la levure Delft, dépouillée de sa membrane, ne montre aucun pouvoir de phosphorylation. On a pu craindre, en effet, que le suc d'escargot renferme un agent de destruction de l'hexosephosphate, qui aurait pu se former quand-même sous l'influence de l'action de la levure dépouillée de membrane. En fait, les expériences suivantes montrent qu'il en est réellement ainsi.

Nous avons recherché d'abord si le suc digestif d'*Helix pomatia* peut exercer une influence sur l'action d'une zymine active. A cet effet nous avons préparé une zymine active d'après la méthode de Albert, Buchner et Rapp avec une levure de bière de fermentation basse typique (*). Nous avons préparé deux flacons, contenant chacun 50 cm³ d'une solution de glucose à 20 % et de phosphate de potassium à 2 % (pH = 6,0). Dans chacun de ces flacons nous avons ajouté 4 grammes de la

(*) Brasserie Demory à Paris.

zymine active et dans le flacon II en outre 2 cm³ de suc digestif frais. La réaction a lieu à la température de 25° en présence de toluène. Voici les résultats obtenus (tableau LXXII) :

TABLEAU LXXII

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	I zymine	II zymine + suc	I zymine	II zymine + suc
0	195,2	196,4	5,517	4,486
2	—	200,8	—	4,660
3	—	172,0	—	4,616
3 1/4	165,2	—	1,720	—
5 1/2	159,6	—	0	—
18	—	152,0	—	1,912
22 1/2	83,6	—	0	—

Il résulte de ces expériences qu'en effet le suc digestif a beaucoup ralenti la phosphorylation. Tandis que la zymine seule (I) est capable de faire disparaître 5,5 mgr. de P par cm³ en 5 heures 1/2, en présence de suc digestif, après 18 heures, il reste toujours encore environ 2 milligrammes de P par cm³. S'agit-il ici d'une action diastasique ou bien le suc digestif contient-il des sels qui exercent une action inhibitrice sur les ferments qui synthétisent les éthers phosphoriques ? (*)

Afin de répondre à cette question, il fallait répéter la même expérience avec du suc bouilli. Trois flacons reçoivent chacun 50 cm³ de la solution de glucose à 20 % et de phosphate de potassium à 2 % (pH = 6,0). Dans les trois flacons on introduit 4 grammes de zymine et un peu de toluène, dans le flacon II on ajoute en outre

(*) Avec H. Euler (61) nous désignons les ferments synthétisant des éthers phosphoriques comme phosphatase ou hexosephosphatase.

(61) H. EULER. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **74**, 13 ; 1911.

6,5 cm³ de suc digestif frais et dans le flacon III 6,5 cm³ de suc digestif, chauffé préalablement pendant 20 minutes dans de l'eau bouillante. Les résultats des dosages sont résumés dans le tableau LXXIII.

TABLEAU LXXIII

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³			Mgr. phosphore par cm ³		
	I	II	III	I	II	III
0	199,2	168,8	172,0	5,053	5,106	4,444
4 1/4	162,8	166,8	156,0	1,403	4,616	2,264
6 1/2	160,0	164,8	152,0	0,545	3,871	1,053
24	130,4	161,2	126,4	0,433	4,286	0,436
47	99,2	161,2	99,6	0,811	5,454	0,790

On voit qu'en effet, seul le suc frais ralentit la phosphorylation et que le suc bouilli n'a aucune influence sur l'action de la zymine. Le suc digestif frais contient donc une substance de nature diastasique à laquelle est due l'action inhibitrice que nous avons observée.

Cette action inhibitrice ne serait-elle pas due à la présence dans le suc d'*Helix* d'une diastase qui décompose l'hexosephosphate formé ? On sait en effet que certaines préparations de levure renferment une telle diastase, qu'on désigne sous le terme de phosphatase ou hexosephosphatase (62).

Afin de répondre à cette question, nous avons soumis de l'hexosephosphate préparé par la zymine à l'action du suc digestif. Voici la disposition de notre expérience. On fait fermenter la solution de sucre en présence de phosphates par la zymine. Après quelques heures les phosphates minéraux sont transformés en éthers phosphoriques. A ce moment, on divise le liquide en trois portions : la portion I reste telle quelle, la portion II

(62) A. HARDEN et W. J. YOUNG. — *Proc. Roy. Soc.*, B, **82**, 321 ; 1910..

reçoit du suc digestif frais et à la portion III on ajoute du suc digestif bouilli. On ramène alors les trois portions au même volume.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau LXXIV.

TABLEAU LXXIV

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³			Mgr. phosphore par cm ³		
	I	II	III	I	II	III
0	172,0	172,0	172,0	4,800	4,800	4,800
4	158,8	158,8	158,8	2,424	2,424	2,424
7	166,0		161,2	0,422	2,310	0,392
23 1/2	128,0	141,6	113,2	0,476	3,692	0,430

Il résulte de ces expériences que le suc digestif frais contient en effet la phosphatase, c'est-à-dire la diastase qui décompose les hexosephosphates. On voit que, après 4 heures, moment où nous avons ajouté le suc frais dans l'essai II et le suc bouilli dans l'essai III, la production d'hexosephosphates (diminution des phosphates minéraux dosés) continue dans I et III, tandis que dans II, où le suc ajouté n'a pas été bouilli, les hexosephosphates déjà formés sont décomposés (augmentation des phosphates minéraux dosés).

Cette expérience a été répétée et, pour avoir des résultats plus nets encore, nous n'avons ajouté le suc frais dans l'essai II et le suc bouilli dans l'essai III qu'après 24 heures. Ainsi la quantité de phosphates minéraux, transformés en éthers phosphoriques sous l'influence de la phosphatase contenue dans la zymine, était plus grande. Nous donnons les résultats des dosages dans le tableau LXXV.

TABLEAU LXXV

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³			Mgr. phosphore par cm ³		
	I	II	III	I	II	III
0	200,8	200,8	200,8	4,403	4,403	4,403
6	161,2	161,2	161,2	0,554	0,554	0,554
24	133,2	133,2	133,2	0,580	0,580	0,580
28	115,6	110,4	120,8	0,498	1,529	0,535
30	112,8	—	119,6	0,593	1,832	0,633
47 1/2	109,6	108,4	—	1,518	4,000	1,473

Il résulte de ces chiffres une fois de plus et plus nettement encore, que le suc digestif renferme de la phosphatase, étant donné que dans l'expérience II, après 24 heures, moment où nous avons ajouté le suc digestif, les hexosephosphates sont beaucoup plus vite décomposés que dans les essais I ou III. On voit également dans les expériences I et III le commencement de la décomposition normale des éthers phosphoriques, quoique les fermentations ne soient pas encore terminées (*).

Ainsi il résulte de nos expériences que le suc digestif renferme de la phosphatase, c'est-à-dire la diastase qui décompose les hexosephosphates.

D'ailleurs la présence de phosphates dans certains tissus animaux a été signalée entre autres par Euler et Funke (63), Euler, Thorin et Johansson (64), Plimmer (65), Embden, Griesbach et Schmitz (66), Hagemann

(*) Fait curieux à signaler, tandis que la levure Delft est facilement attaquée par le suc d'Helix, la levure de bière Demory résiste à son action. Même la levure de bière cultivée dans les mêmes conditions que la levure Delft résiste aussi.

(63) H. EULER et Y. FUNKE. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **77**, 488 ; 1912.

(64) H. EULER, E. THORIN et D. JOHANSSON. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **79**, 375 ; 1912.

(65) R. H. A. PLIMMER. — *Biochem. Journal*, **7**, 43 ; 1913.

(66) G. EMBDEN, W. GRIESBACH et E. SCHMITZ. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **93**, 1 ; 1914.

(67), Tomita (68), Robison (69), Robison et Soames (70), Kay et Robison (71), Forrai (72, 73), Takahashi (74), Demuth (75, 76) et Riesser (77).

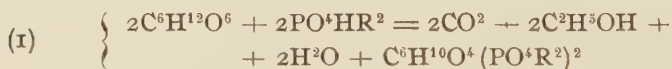
Les résultats négatifs obtenus par la levure privée de sa membrane sont-ils dus uniquement au fait que le suc d'Helix décompose l'hexosephosphate au fur et à mesure de sa production ou bien faut-il admettre que la levure traitée par ce suc se comporte comme la levure vivante, c'est-à-dire ne provoque pas la formation des éthers phosphorés ? Il est évident que cette question ne peut être résolue que par des expériences nouvelles dans lesquelles on arriverait à éliminer du suc actif la phosphatase, sans toucher aux diastases attaquant la membrane de la levure.

- (67) H. HAGEMANN. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **93**, 54 ; 1914.
 - (68) M. TOMITA. — *Biochem. Zeitschr.*, **131**, 170 ; 1922.
 - (69) R. ROBISON. — *Loc. cit.* 37.
 - (70) R. ROBISON et K. M. SOAMES. — *Biochem. Journal*, **18**, 740 ; 1924.
 - (71) H. D. KAY et R. ROBISON. — *Biochem. Journal*, **18**, 755 ; 1924.
 - (72) E. FORRAI. — *Biochem. Zeitschr.*, **145**, 47 ; 1924.
 - (73) E. FORRAI. — *Biochem. Zeitschr.*, **145**, 54 ; 1924.
 - (74) Y. TAKAHASHI. — *Biochem. Zeitschr.*, **145**, 178 ; 1924.
 - (75) F. DEMUTH. — *Biochem. Zeitschr.*, **159**, 415 ; 1925.
 - (76) F. DEMUTH. — *Biochem. Zeitschr.*, **166**, 162 ; 1925.
 - (77) O. RIESSER. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **161**, 149 ; 1926.
-

CHAPITRE XI

LA PHOSPHORYLISATION ET LES GLUCIDES NON FERMENTESCIBLES

On se rappelle que, d'après Harden et Young, la fermentation alcoolique est intimement liée à la production des hexosephosphates. La fermentation s'opérerait, d'après ces auteurs suivant les formules :



Ainsi, dans la première réaction, une molécule de sucre serait transformée en alcool et CO^2 , tandis que l'autre entrerait en combinaison avec deux molécules de phosphate. Dans la deuxième phase de la fermentation, une réaction inverse se produit : l'hexosephosphate est hydrolysé, et cette hydrolyse conduit à la mise en liberté des éléments constitutifs, aux dépens desquels l'hexosephosphate s'est formé dans la première phase de la fermentation.

La phosphorylisation devient ainsi une condition préalable de la fermentation alcoolique. En fait, si l'on s'adresse à une zymine inactive, telle qu'on l'obtient par le traitement d'une levure de fermentation haute (levure de boulangerie) par l'acétone et l'éther, cette zymine

ne provoque pas la formation d'hexosephosphate, lorsqu'on la fait agir sur une solution de glucose en présence de phosphates. Ainsi nous avons fait agir 4 grammes d'une zymine, préparée à partir d'une levure de boulangerie (Springer), sur 50 cm³ d'une solution de glucose à 20 %, additionnée de 2 % de PO⁴H(NH⁴)² et de toluène. Le tableau suivant (tableau LXXVI) fait voir qu'à une fermentation extrêmement faible correspond une très faible phosphorylisation.

TABLEAU LXXVI

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³		Mgr. phosphore par cm ³	
	rest.	cons.	rest.	cons.
0	174,8	0	4,342	0
3 1/2	—	—	3,707	0,635
23 1/2	140,8	34,0	3,454	0,888
47	136,8	38,0	4,222	0,120

Cependant on connaît des faits qui indiquent que la phosphorylisation peut avoir lieu sans fermentation concomitante, faits signalés par Iwanoff (78) ainsi que par Euler et Ohlsén (79, 80).

D'autre part, la production d'hexosephosphate n'a pas lieu lorsque la fermentation est déterminée par la levure vivante, qui d'ailleurs ne s'attaque pas à l'éther phosphorique, comme l'exige la deuxième formule de Harden. Ces faits ont conduit certains auteurs et C. Neuberg notamment, à se demander si la production de l'hexosephosphate en dehors de la cellule vivante et sa décomposition ultérieure ne sont pas le résultat d'un

(78) L. IWANOFF. — *Centralblatt f. Bakteriol.*, (II. Abt.), **24**, 1 ; 1909.

(79) H. EULER et H. OHLSEN. — *Biochem. Zeitschr.*, **37**, 313 ; 1911.

(80) H. EULER et H. OHLSEN. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **76**, 468 ; 1912.

Voir la monographie de M. SCHOEN, p. 129, *loc. cit.* 26.

dérèglement profond du jeu normal des agents catalytiques, aussi variés que nombreux, contenus dans la levure.

Or, si réellement la phosphorylation est intimement liée à la fermentation, la configuration stéréoisomérique des sucres qui détermine leur fermentescibilité, doit également intervenir dans la production de l'éther phosphorique. En d'autres termes, on peut se demander si c'est la même configuration qui gouverne aussi bien la fermentation que la phosphorylation. C'est à ce problème que nous avons voulu apporter une réponse expérimentale.

A cet effet, nous avons étudié la manière de se comporter de certains glucides, dont la non fermentescibilité est bien connue.

Nous avons voulu d'abord confirmer par une expérience directe que la phosphorylation est liée nécessairement à la présence dans la molécule d'un groupement aldéhydique ou cétonique, comme le cas se présente dans le glucose et le mannose ou dans le lévulose. Nous avons choisi par conséquent la d-mannite, l'alcool polyvalent correspondant aux sucres fermentescibles.

Les résultats obtenus ont été négatifs : la mannite n'a subi, sous l'influence de l'action d'une zymine active, déjà employée dans nos essais antérieurs (p. 118), ni fermentation ni phosphorylation (*). Il en a été de même d'un échantillon de dulcité que nous avons traité de la même façon.

La présence du groupement aldéhydique ou cétonique dans la molécule est donc indispensable pour que non seulement la fermentation mais aussi la phosphorylation ait lieu. Mais la fermentescibilité d'un sucre par la levure ne dépend pas, on le sait, uniquement de la présence dans la molécule du groupement aldéhydique ou

(*) Euler et Kullberg (81) ont fait, dans un autre ordre d'idées, une observation analogue.

(81) H. EULER et S. KULLBERG. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 74, 115 ; 1911.

cétonique, mais de l'emplacement dans l'espace des groupements alcool secondaire. La phosphorylation est-elle liée à une configuration semblable ? Pour répondre à cette question nous nous sommes adressé d'abord à l'arabinose, pentose considérée comme parfaitement inattaquable par la levure. Voici comment nous avons opéré.

Nous avons préparé 4 échantillons différents, dont la composition est indiquée dans le tableau LXXVII.

TABLEAU LXXVII

	I	II	III	IV
Glucose.....	10 gr.	10 gr.	—	—
Arabinose....	—	—	10 gr.	10 gr.
PO ⁴ H(NH ⁴) ² ..	—	1 gr.	—	1 gr.
Zymine.....	4 gr.	4 gr.	4 gr.	4 gr.
Toluène.....	1 cm ³	1 cm ³	1 cm ³	1 cm ³
Volume total.	50 cm ³	50 cm ³	50 cm ³	50 cm ³

Les dosages du sucre disparu et du phosphate minéral transformé sont représentés dans les tableaux LXXVIII et LXXIX.

TABLEAU LXXVIII

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³				Mgr. arabinose par cm ³			
	I rest.	I cons.	II rest.	II cons.	III rest.	III cons.	IV rest.	IV cons.
0	214,8	0	208,0	0	209,6	0	214,8	0
1	—	—	208,0	0	—	—	209,6	5,2
3 1/2	—	—	181,6	26,4	214,8	—	200,4	14,4
7	201,2	13,6	156,0	52,0	211,6	—	203,6	11,2
24 1/2	188,8	26,0	87,6	120,4	215,6	—	205,6	9,2
47 1/2	194,4	20,4	85,2	122,8	217,2	—	215,6	—

TABLEAU LXXIX

Durée en heures	Mgr. phosphore par cm ³							
	I rest.	I cons.	II rest.	II cons.	III rest.	III cons.	IV rest.	IV cons.
0	0	—	4,903	0	0	—	4,750	0
1	0,304	—	3,800	1,103	0,518	—	4,222	0,528
3 1/2	0,539	—	0	4,903	0,698	—	3,800	0,950
7	0,562	—	0	4,903	—	—	4,606	0,144
24 1/2	—	—	0	4,903	1,102	—	4,750	0
47 1/2	1,118 (*)	—	1,476	3,427	1,421 (*)	—	4,750	0

Ces chiffres montrent que, tandis que le glucose est fermenté sous l'influence de l'action de la zymine et que le phosphate disparaît avec une grande vitesse, l'arabinose n'est ni fermenté ni phosphorylé. Cependant, il y a une légère diminution des phosphates minéraux dans le cas de l'arabinose. On pourrait donc, peut-être, croire qu'il y a une légère phosphorylation, ainsi que l'ont admis Euler et Kullberg (*loc. cit.* 81). Toutefois, il s'agit dans nos expériences d'une diminution si faible, des phosphates minéraux en comparaison avec les quantités de phosphore qui sont transformées en éthers phosphoriques pendant la fermentation du glucose, qu'on est conduit plutôt à admettre qu'il s'agit ici de l'intervention de faibles impuretés, apportées par la pentose. Nous avons déterminé, en effet, au polarimètre la rotation spécifique de notre échantillon d'arabinose et avons trouvé $[\alpha]_D^{20} = 100^{\circ}3$, tandis que l'on trouve dans la littérature pour ce sucre des valeurs qui varient de $104^{\circ}4$ à $105^{\circ}4$.

(*) L'augmentation de la concentration des phosphates minéraux dans les essais I et III peut être expliquée par la décomposition des cellules de levure.

Nos résultats sont d'accord avec ceux que viennent de signaler Benedict, Dakin et West (82). Les recherches des auteurs américains ont porté sur le *glucose*, sucre cétonique non fermentescible, qu'on trouve souvent dans les mélasses de canne.

*
* * *

Dans une nouvelle série d'expériences nous avons essayé d'obtenir la phosphorylation du galactose. La fermentescibilité de ce sucre a fait l'objet, on le sait, de nombreux travaux. Ainsi, comme l'a signalé Pasteur (83), le galactose, découvert par lui, serait fermenté par certaines levures. La fermentescibilité de ce sucre a été confirmée ensuite par H. Fudakowski (84, 85, 86), E. O. von Lippmann (87, 88), B. Tollens et W. E. Stone (89) et W. E. Stone et B. Tollens (90).

E. Fischer et H. Thierfelder (91) signalent également que plusieurs levures font fermenter le galactose et ils émettent l'opinion que l'accoutumance d'une levure à un certain sucre peut changer l'action fermentative de ce microorganisme.

(82) ETHEL M. BENEDICT, H. D. DAKIN et R. WEST. — *Journ. biol. Chem.* **68**, 1; 1926.

(83) Note sur le sucre de lait, Lettre de M. PASTEUR à M. BIOT, *C. R. Ac. des Sciences*, **42**, 347; 1856. — Voir *Œuvres de Pasteur* réunies par PASTEUR VALLERY-RADOT, t. I, p. 280, Masson et C^{ie}, Editeurs, Paris, 1922.

(84) H. FUDAKOWSKI. — *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, **8**, 599; 1875.

(85) H. FUDAKOWSKI. — *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, **9**, 42; 1876.

(86) H. FUDAKOWSKI. — *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, **11**, 1069; 1878.

(87) EDMUND O. VON LIPPMANN. — *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, **17**, 2238; 1884.

(88) EDMUND O. VON LIPPMANN. — *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, **20**, 1001; 1887.

(89) B. TOLLENS et W. E. STONE. — *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, **21**, 1572; 1888.

(90) W. E. STONE et B. TOLLENS. — *Liebigs Annalen d. Chemie*, **249**, 257; 1888.

(91) E. FISCHER et H. THIERFELDER. — *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, **27**, 2031; 1894.

Une étude détaillée des conditions, dans lesquelles certaines levures peuvent être accoutumées à faire fermenter le galactose a été effectuée par F. Diénert (92). Cet auteur conclut qu'une levure peut être accoutumée au galactose par des cultures successives dans des milieux nutritifs contenant ce sucre. L'accoutumance peut être perdue de nouveau par des cultures dans des milieux ne contenant pas du galactose.

E. F. Armstrong (93) signale aussi que certaines levures sont capables de faire fermenter le galactose. Sur l'accoutumance des levures au galactose et sur la fermentescibilité de ce sucre on peut citer encore les recherches de A. Slator (94), A. Harden et R. V. Norris (95), H. Euler et D. Johansson (96), A. J. Kluyver (97), H. v. Euler, I. Laurin et A. Pettersson (98), N. L. Söhnngen et C. Coolhaas (99), H. v. Euler et R. Nilsson (100), H. v. Euler et T. Lövgren (101) et N. L. Söhnngen et C. Coolhaas (102).

Nous avons d'abord essayé d'établir si le galactose pur (*) ne se prête pas à la phosphorylation dans les

(92) F. DIENERT. — *Ann. Institut Pasteur*, **14**, 139 ; 1900.

(93) E. F. ARMSTRONG. — *Proc. Roy. Soc.*, B, **76**, 600 ; 1905.

(94) A. SLATOR. — *Journ. chem. Soc.*, **93**, 217 ; 1908.

(95) A. HARDEN et R. V. NORRIS. — *Proc. Roy. Soc.*, B, **82**, 645 ; 1910.

(96) H. EULER et D. JOHANSSON. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **78**, 246 ; 1912.

(97) A. J. KLUYVER. — *Biochemische suikerbepalingen*. — *Thèse de l'Université Technique de Delft*, Hollande, 1914.

(98) H. v. EULER, I. LAURIN et A. PETERSSON. — *Biochem. Zeitschr.*, **114**, 277 ; 1921.

(99) N. L. SÖHNNGEN et C. COOLHAAS. — *Journ. of Bacteriol.*, **9**, 131 ; 1924.

(100) H. v. EULER et R. NILSSON. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **143**, 89 ; 1925.

(101) H. v. EULER et T. LÖVGREN. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **146**, 44 ; 1925.

(102) N. L. SÖHNNGEN et C. COOLHAAS. — *Centralbl. f. Bakteriol.*, (II. Abt.), **66**, 5 ; 1926.

(*) Nous avons purifié le galactose du commerce, qui contient toujours des quantités variables de glucose, par des lavages répétés, à chaud, dans l'alcool à 96 %. Ainsi on peut débarrasser le galactose complètement du glucose. Nous avons déterminé au polarimètre la rotation spécifique de notre galactose pur et avons trouvé $[\alpha]_D^{20} = 83^{\circ}5$, tandis que dans la littérature on trouve, pour ce sucre pur, des valeurs qui varient de $81^{\circ}4$ à $81^{\circ}7$.

conditions où le glucose est facilement phosphorylé. Voici le résultat de notre essai (tableau LXXX).

TABLEAU LXXX

Durée en heures	Mgr. glucose par cm ³ (I)		Mgr. galactose par cm ³ (II)		Mgr. phosphore par cm ³			
	rest.	cons.	rest.	cons.	I rest.	I cons.	II rest.	II cons.
0	188,8	0	200,8	0	5,066	0	5,334	0
3 1/2	168,4	20,4	200,0	0,8	1,187	3,879	5,242	0,092
23 1/2	99,2	89,6	202,4	—	0,661	4,405	5,242	0,092

Dans cet essai nous avons opéré sur des solutions à 20 % de glucose et de galactose, additionnées de 2 % de $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)^2$. On voit, d'après ces chiffres, que pendant 24 heures le galactose n'est ni fermenté ni phosphorylé, tandis que dans les mêmes conditions les 50 % du glucose ont fermenté et que 87 % environ du phosphate minéral ont été transformés en hexosephosphate.

Dans une autre expérience, nous nous sommes adressé à du galactose soumis à l'action d'un alcali dilué. On sait que, comme l'ont montré C. A. Lobry de Bruyn et Alberda van Ekenstein (103), les alcalis provoquent des transformations intramoléculaires, qui conduisent à la formation de sucres autres que ceux dont on est parti. Nous avons traité, à une température de 40° C, une solution de galactose à 5 % avec du bicarbonate de soude dilué. Par ce traitement la rotation a diminué de 11°53' à 2°18' et après neutralisation à l'orangé avec de l'acide acétique dilué, cette dernière rotation est restée cons-

(103) C. A. LOBRY DE BRUYN. — *Rec. trav. chim. Pays-Bas*, **14**, 156 ; 1895.
— C. A. LOBRY DE BRUYN et ALBERDA VAN EKENSTEIN. — *Rec. trav. chim. Pays-Bas*, **14**, 203 ; 1895. — Voir aussi : *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, **28**, 3078 ; 1895. — *Rec. trav. chim. Pays-Bas*, **15**, 92 ; 1896. — *Ibidem*, **16**, 262 et 274 ; 1897.

tante. Nous avons essayé d'obtenir une phosphorylation avec le sucre ainsi obtenu, mais le résultat a été négatif.

En présence de ces résultats négatifs, il était intéressant de rechercher si une préparation de zymine, provenant d'une levure accoutumée au galactose serait susceptible de combiner le galactose au phosphate.

Voici comment nous avons opéré pour accoutumer la levure au galactose. La levure de bière de fermentation basse (levure Demory) est cultivée pendant de nombreuses générations dans un milieu constitué par de l'eau de touraillons et du galactose (2,5 %) représentant le seul aliment hydrocarboné. Après un certain nombre de passages (20-22), nous avons procédé à la culture de la levure ainsi traitée, en grand sur des boîtes de Nicolle, contenant de l'eau de touraillons gélosée, additionnée de galactose et de phosphate bipotassique. La levure ainsi cultivée nous a fourni une zymine, qui a été inactive pour le galactose, c'est-à-dire qu'il n'y a eu ni fermentation ni phosphorylation.

Nous avons aussi accoutumé la même levure de bière au galactose en opérant sur le mélange résultant de l'hydrolyse du lactose. La zymine, préparée à partir de cette levure, cultivée également sur les boîtes de Nicolle, s'est montrée inactive non seulement pour le galactose, mais aussi pour le glucose, qu'elle n'a pas fait fermenter ni phosphoryler.

Ce résultat négatif nous a conduit à penser que la culture de notre levure sur milieu solide lui fait perdre ses propriétés fermentatives lorsqu'on la transforme en zymine. Nous avons donc essayé de cultiver cette levure dans un milieu liquide. Comme d'habitude nous nous sommes servi de l'eau de touraillons, à laquelle nous avons ajouté 5 % de lactose hydrolysé et 0,1 % de PC^4HK^2 . Afin de cultiver dans de bonnes conditions d'aération, nous avons mis le liquide dans un grand nombre de flacons Fernbach. Ainsi nous avons pu récolter, à l'aide d'un centrifuge, une quantité de levure, qui nous a fourni suffisamment de zymine.

Voici comment nous avons opéré dans nos essais comparatifs. Le tableau LXXXI indique la composition des échantillons soumis à l'examen.

TABLEAU LXXXI

	I	II
Galactose.....	5 gr.	—
Glucose.....	—	5 gr.
Phosphate de K ($pH = 6,0$).....	0,5 gr.	0,5 gr.
Zymine.....	2 gr.	2 gr.
Toluène.....	0,5 cm ³	0,5 cm ³
Volume total.....	25 cm ³	25 cm ³

Les résultats de ces essais sont représentés dans le tableau LXXXII.

TABLEAU LXXXII

Durée en heures	Mgr. galactose par cm ³ (I)		Mgr. glucose par cm ³ (II)		Mgr. phosphore par cm ³			
	rest.	cons.	rest.	cons.	I rest.	I cons.	II rest.	II cons.
0	183,2	0	202,8	0	4,486	0	4,528	0
3 1/2	186,4	—	172,0	30,8	4,486	0	3,221	1,307
5 1/2	186,4	—	164,8	38,0	4,443	0,043	1,826	2,702
23 1/2	180,4	2,8	97,6	105,2	4,571	—	0	4,528
48	178,8	4,4	79,2	123,6	4,949	—	0,987	3,541

Il résulte de ces expériences que la zymine, active pour le glucose, qu'elle fait fermenter, reste sans action pour le galactose. Et tandis que, dans le cas du glucose, nous assistons à la transformation complète du phosphate minéral en hexosephosphates et même à la décomposition ultérieure de cet éther, l'essai portant sur le galactose

n'a donné qu'un résultat tout à fait négatif ; seul l'apparition du phosphore provenant de la zymine est visible dans cette expérience (*).

La conclusion qui s'impose c'est que les sucres non fermentescibles et même le galactose, dont la fermentescibilité est controversée, ne donnent pas lieu à la production d'hexosephosphates. Il semble ainsi que décidément la configuration stéréoisomérique, qui intervient dans la fermentation, joue également un rôle dans la phosphorylation.

(*) Ce résultat est en contradiction avec celui qu'ont signalé Harden et Norris (*loc. cit.* 95), mais il est à noter que ces auteurs anglais ont opéré avec du suc de levure.

CONCLUSIONS

Nous avons recherché d'établir le rapport qui existe entre le développement de la levure et l'absorption de phosphore par cet organisme. A cet effet, nous avons étudié la marche de l'absorption du phosphore par diverses levures, dans divers milieux de culture en variant les conditions. En voici les principaux résultats :

Nous avons cultivé la levure J de distillerie dans trois milieux artificiels de différentes acidités initiales. L'absorption du phosphore par la levure a été en rapport direct avec la quantité de levure formée ; elle a été plus intense dans un milieu maintenu neutre et moins intense dans des milieux acides. La vitesse de la fermentation a été également plus grande dans le milieu neutre.

Dans des milieux naturels le même phénomène se produit : l'absorption du phosphore est le plus intense dans le milieu neutre, où la levure se développe le mieux et où la vitesse de la fermentation est plus grande que dans les milieux acides.

Ensuite nous avons constaté que l'absorption du phosphore par la levure est indépendante de la dose initiale de cet élément, pourvu que toutes les autres conditions de culture soient les mêmes.

La levure, dans des conditions favorables, est capable de consommer tout le phosphore offert, pourvu que sa concentration initiale ne soit pas trop grande.

La différence entre le développement de la levure, et par conséquent de l'absorption de phosphore, dans un

milieu neutre et dans un milieu acide a été observée également pour les levures suivantes : levure Logos, levure de Champagne Cramant, levure Springer et levure XII de Berlin.

La « levure Delft » se comporte d'une manière toute autre. La vitesse de la fermentation et le développement de cette levure ne sont pas favorisés par un milieu neutre, mais plutôt par un milieu acide. Pourtant, dans le milieu neutre, la levure absorbe plus de phosphore, de sorte qu'il faut admettre que dans ce milieu les cellules de levure renferment plus de phosphore que dans le milieu acide.

Le fait que cette levure est plutôt favorisée par un milieu acide que par un milieu neutre, contrairement à ce que nous avons observé pour les autres levures étudiées, peut être expliqué par la culture prolongée de cette levure dans un milieu acide, de sorte qu'elle est habituée à des acides.

Cette manière spéciale de se comporter de la levure Delft se montre seulement dans les milieux contenant comme sucre fermentescible du saccharose interverti et non pas dans les milieux contenant du glucose.

Si l'on favorise la pénétration de l'air dans le milieu nutritif, en cultivant la levure J dans des vases de différents modèles, on favorise la levure agissant comme végétal aux dépens de la levure agissant comme agent de la fermentation alcoolique et, dans ce cas, la levure produit plus de cellules et absorbe, par conséquent, plus de phosphore. La vitesse de la fermentation n'est pas influencée par une pénétration plus intense de l'oxygène.

Dans les conditions de nos expériences une augmentation de la dose initiale de phosphore n'augmente pas dans les mêmes proportions la récolte de levure, ni son activité. Nous avons montré que dans ces conditions l'azote se trouvait au minimum, dans le sens de la loi du *minimum* de J. von Liebig, de sorte que l'augmentation de la dose initiale d'azote augmente la récolte de levure et l'absorption du phosphore.

Nous avons établi que, dans la fermentation provoquée par de grandes quantités de levure, le phosphore n'intervient pas quantitativement, comme le cas se présente dans les fermentations déterminées par le suc de levure ou par les préparations de levure sèche.

De même, le phosphore n'intervient pas quantitativement dans la fermentation déterminée par la levure, dépouillée de sa membrane sous l'influence du suc hépato-pancréatique de l'escargot, *Helix pomatia*, notamment il n'y a pas production d'éthers phosphoriques. Cependant, nous avons observé que le suc digestif de l'escargot renferme lui-même de la phosphatase, c'est-à-dire la diastase qui décompose les hexosephosphates.

Par l'étude de l'action d'une zymine active sur des glucides non fermentescibles, nous avons confirmé que la phosphorylation est liée nécessairement à la présence dans la molécule d'un groupement aldéhydique ou cétonique.

Les sucres non fermentescibles et même le galactose, dont la fermentescibilité est controversée, ne donnent pas lieu à la production d'hexosephosphates. Il semble que décidément la configuration stéréoisomérique, qui intervient dans la fermentation, joue également un rôle dans la phosphorylation.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

	Pages
ALBERT (R.), BUCHNER (E.) et RAPP (R.). — Herstellung von Dauerhefe mittels Aceton. <i>Ber. d. deutsch. chem. Ges.</i> , 35 , 2376 ; 1902.....	117
ARMSTRONG (E. F.). — Studies on Enzyme Action. <i>Proc. Roy. Soc., B.</i> , 76 , 600 ; 1905.....	130
BELL (RICHARD D.) et DOISY (EDWARD A.). — Rapid colorimetric Methods for the Determination of Phosphorus in Urine and Blood. <i>Journ. biol. Chem.</i> , 44 , 55 ; 1920	15
BENEDICT (ETHEL M.), DAKIN (H. D.) et WEST (R.). — On Glucose and its biochemical Behavior. <i>Journ. biol. Chem.</i> , 68 , 1 ; 1926	129
BERMANN (V.) et KULP (E.). — Ueber den Phosphorsäure-Stoffwechsel in der Presshefefabrikation. <i>Wochenschr. f. Brauerei</i> , 42 , 39 ; 1925.	112
BIEDERMANN (W.) et MORITZ (P.). — Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. II. Ueber ein Cellulose lösendes Enzym im Lebersecret der Schnecke (<i>Helix pomatia</i>). <i>Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol.</i> , 73 , 219 ; 1898	114
BIERRY (H.) et GIAJA (J.). — Sur la digestion des mannanes et des galactanes. <i>C. R. Soc. de biol.</i> , 58 , 945 ; 1906.....	114
BRIGGS (A. P.). — A Modification of the BELL-DOISY Phosphate Method. <i>Journ. biol. Chem.</i> , 53 , 13 ; 1922.....	16
BRIGGS (A. P.). — Some Applications of the colorimetric Phosphate Method. <i>Journ. biol. Chem.</i> , 59 , 255 ; 1924.....	17
BUCHNER (E.). — Alkoholische Gärung ohne Hefezellen. (Vorläufige Mittheilung). <i>Ber. d. deutsch. chem. Ges.</i> , 30 , 117 ; 1897.....	10
BUCHNER (E.), BUCHNER (H.) et HAHN (M.). — Die Zymasegärung. Untersuchungen über den Inhalt der Hefezellen und die biologische Seite des Gärungsproblems. — München und Berlin, 1903.....	10
DEMUTH (F.). — Ueber Phosphatstoffwechsel. <i>Biochem. Zeitschr.</i> , 159 , 415 ; 1925	123
DEMUTH (F.). — Ueber Phosphatstoffwechsel. <i>Biochem. Zeitschr.</i> , 166 , 162 ; 1925	123
DENIS (W.) et MEYSENBUG (L. VON). — Note on a possible Source of Error in the BELL-DOISY Method for the Determination of Phosphates in Blood Plasma. <i>Journ. biol. Chem.</i> , 52 , 1 ; 1922.....	18
DIENERT (F.). — Sur la fermentation du galactose et sur l'accoutumance des levures à ce sucre. <i>Ann. Institut Pasteur</i> , 14 , 139 ; 1900.....	130
DUCLAUX (E.). — Traité de Microbiologie, tome III. — Paris, 1900.	9

	Pages
DUMAS (J. B.). — Leçon professée à la Société chimique en 1860. — Paris, Hachette, 1861	5
ELION (H.). — Studien über Hefe. <i>Centralbl. f. Bakteriöl. und Parasitenk.</i> , 14 , 53 et 97 ; 1893.....	10
EMBDEN (G.), GRIESBACH (W.) et SCHMITZ (E.). — Ueber Milchsäurebildung und Phosphorsäurebildung im Muskelpresssaft. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 93 , 1 ; 1914.....	122
EULER (H.). — Zur Nomenklatur der Enzyme. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 74 , 13 ; 1911	119
EULER (H.) et KULLBERG (S.). — Ueber die Wirkungsweise der Phosphatase. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 74 , 115 ; 1911.....	126
EULER (H.) et OHLSÉN (H.). — Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Wirkung der Phosphatase. <i>Biochem. Zeitschr.</i> , 37 , 313 ; 1911..	125
EULER (H.) et OHLSÉN (H.). — Ueber die Wirkungsweise der Phosphatase. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 76 , 468 ; 1912.....	125
EULER (H.) et FUNKE (Y.). — Ueber die Spaltung der Kohlenhydratphosphorsäureester. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 77 , 488 ; 1912	122
EULER (H.) et JOHANSSON (D.). — Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung und Bildung der Enzyme. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 78 , 246 ; 1912	130
EULER (H.), THORIN (E.) et JOHANSSON (D.). — Verhalten der Kohlenhydratphosphorsäureester im Tierkörper. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 79 , 375 ; 1912.....	122
EULER (H. v.), LAURIN (I.) et PETTERSSON (A.). — Anpassung einer Oberhefe an das Gärsubstrat Galaktose. <i>Biochem. Zeitschr.</i> , 114 , 277 ; 1921	130
EULER (H. v.) et NORDLUND (F.). — Ueber die enzymatische Synthese des Fructose-Zymophosphates. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 116 , 229 ; 1921	116
EULER (H. v.) et NILSSON (R.). — Ueber die Galaktosevergärung durch Hefe nach Vorbehandlung mit dieser Zuckerart. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 143 , 89 ; 1925	130
EULER (H. v.) et LÖVGREN (T.). — Die durch Vorbehandlung hervorgerufene Gärfähigkeit frischer Hefe für Galaktose und die Konstanz dieser Eigenschaft. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 146 , 44 ; 1925.	130
FERNBACH (A.). — Quelques observations sur la composition de l'amidon de pommes de terre. <i>C. R. Ac. des Sciences</i> , 138 , 428 ; 1904..	2
FERNBACH (A.) et TRIANDAFIL (D.). — Sur l'assimilation et l'excrétion de l'azote ammoniacal par la levure. <i>C. R. Soc. de biol.</i> , 90 , 912 ; 1924	105
FISCHER (E.) et THIERFELDER (H.). — Verhalten der verschiedenen Zucker gegen reine Hefen. <i>Ber. d. deutsch. chem. Ges.</i> , 27 , 2031 ; 1894.	129
FISKE (CYRUS H.) et YELLAPRAGADA SUBBAROW. — The colorimetric Determination of Phosphorus. <i>Journ. biol. Chem.</i> , 66 , 375 ; 1925..	19
FORBES (E. B.) et KEITH (M. HELEN). — A Review of the Literature of Phosphorus Compounds in Animal Metabolism. — Ohio Agricultural Experiment Station, Technical Series, Bulletin N° 5, Wooster. Ohio. U. S. A. 1914.....	I

	Pages
FORRAI (E.). — Fructosediphosphatase in menschlichen Organen. <i>Biochem. Zeitschr.</i> , 145 , 47 ; 1924.....	123
FORRAI (E.). — Differenzierung menschlicher Phosphatasen. <i>Biochem. Zeitschr.</i> , 145 , 54 ; 1924.....	123
FUDAKOWSKI (H.). — Vorläufige Mittheilung, betreffend zwei aus dem Milchzucker entstehende Zuckerarten. <i>Ber. d. deutsch. chem. Ges.</i> , 8 , 599 ; 1875.....	129
FUDAKOWSKI (H.). — Zur näheren Kenntniss der Galactose. <i>Ber. d. deutsch. chem. Ges.</i> , 9 , 42 ; 1876.....	129
FUDAKOWSKI (H.). — Zur Charakteristik der beiden näheren Milchzucker Abkömmlinge. <i>Ber. d. deutsch. chem. Ges.</i> , 11 , 1069 ; 1878...	129
GIAJA (J.). — Sur l'action de quelques ferments sur les hydrates de carbone de la levure. <i>C. R. Soc. de biol.</i> , 77 , 2 ; 1914.....	113
GIAJA (J.). — Emploi des ferments dans les études de physiologie cellulaire : le globule de levure dépouillé de sa membrane. <i>C. R. Soc. de biol.</i> , 82 , 719 ; 1919.....	113
GIAJA (J.). — La zymase et la fermentation alcoolique. <i>Journ. Physiol. et Pathol. générale</i> , 18 , 1094 ; 1919/20.....	113
GIAJA (J.). — Sur la levure dépouillée de membrane. <i>C. R. Soc. de biol.</i> , 86 , 708 ; 1922.....	113
GRANDEAU (L.). — Chimie et physiologie appliquées à l'agriculture et à la sylviculture. — Paris, 1879.....	2
HAGEMANN (H.). — Ueber die Einwirkung des Uteruspresssaftes auf Hexosephosphorsäure. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 93 , 54 ; 1914....	123
HARDEN (A.) et YOUNG (W. J.). — The Alcoholic Ferment of Yeast-Juice. Part V. The Function of Phosphates in Alcoholic Fermentation. <i>Proc. Roy. Soc., B.</i> , 82 , 321 ; 1910.....	120
HARDEN (A.) et NORRIS (R. V.). — The Fermentation of Galactose by Yeast and Yeast-Juice. <i>Proc. Roy. Soc., B.</i> , 82 , 645 ; 1910. 130 et 134	
HARDEN (A.). — Alcoholic Fermentation. — London, 1923.....	11
HENSING (JOH. TH.). — Examen chemicum Cerebri, ex eodemque phosphorus singularis omnia inflammans. — Giessae, 1719. Thèse de doctorat.....	1
HOFFMANN (M.). — Das Gesetz vom Minimum. — Berlin, Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft, 1913.....	7
IWANOFF (L.). — Ueber die Bildung der phosphororganischen Verbindung und ihre Rolle bei der Zymasegärung. <i>Centralblatt. f. Bakteriologie</i> . (II Abt.), 24 , 1 ; 1909.....	125
KARRER (P.) et ILLING (H.). — Polysaccharide XXX. Zur fermentativen Spaltung der Gerüstzellulose. <i>Zsigmondy Festschrift. Ergänzungsband zu Bd 36 der Kolloid Zeitschr.</i> , p. 91, 1925.....	114
KAY (H. D.) et ROBISON (R.). — The possible Significance of Hexosephosphoric Esters in Ossification. Part. III. <i>Biochem. Journal</i> , 18 , 755 ; 1924.....	123
KAY (H. D.). — Some Phosphorus Compounds of Milk. <i>Biochem. Journal</i> , 19 , 433 ; 1925.....	18
KLUYVER (A. J.). — Biochemische suikerbepalingen. — Thèse de l'Université Technique de Delft, Hollande, 1914.....	130
KLUYVER (A. J.), DONKER (H. J. L.) et VISSER'T HOOFT (F.). — Ueber	

	Pages
die Bildung von Acetylmethylcarbinol und 2, 3-Butylenglykol im Stoffwechsel der Hefe. <i>Biochem. Zeitschr.</i> , 161 , 361; 1925	99
KLUYVER (A. J.) et STRUYK (A. P.). — De rol der phosphaten by de dissimilatie der hexosen. <i>Verslagen Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam</i> (Afd. Natuurk.), 35 , 177; 1926.....	12
LIEBIG (J. VON). — Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Agriculturchemie und Physiologie. — Braunschweig, 1840.....	2
LIEBIG (J. VON). — Die Grundsätze der Agrikulturchemie. — Braunschweig, 1855.....	7
LIEBIG (J. VON). — Nachtrag zu den Grundsätzen der Agrikulturchemie. — Braunschweig, 1855.....	7
LIEBIG (J. VON). — Die Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie. Zweiter Teil : Die Naturgesetze des Feldbaues. — Braunschweig, 1862.....	7
LIPPMANN (EDMUND O. VON). — Ueber die Nichtidentität von Arabinose und Galactose. <i>Ber. d. deutsch. chem. Ges.</i> , 17 , 2238; 1884..	129
LIPPMANN (EDMUND O. VON). — Ueber ein neues Galactan und einige Eigenschaften der Galactose. <i>Ber. d. deutsch. chem. Ges.</i> , 20 , 1001; 1887.....	129
LOBRY DE BRUYN (C. A.). — Action des alcalis dilués sur les hydrates de carbone. I. <i>Rec. trav. chim. Pays-Bas</i> , 14 , 156; 1895.....	131
LOBRY DE BRUYN (C. A.) et EKENSTEIN (W. ALBERDA VAN). — Action des alcalis dilués sur les hydrates de carbone. II. Transformation réciproque des uns dans les autres des sucres glucose, fructose et mannose. <i>Rec. trav. chim. Pays-Bas</i> , 14 , 203; 1895. — Voir aussi : Einwirkung von Alkalien auf Kohlehydrate. Wechselseitige Umwandlung von Glukose, Fructose und Mannose in einander. <i>Ber. d. deutsch. chem. Ges.</i> , 28 , 3078; 1895. — Voir aussi : <i>Rec. trav. chim. Pays-Bas</i> , 15 , 92; 1896. — <i>Ibidem</i> , 16 , 257; 1897. — <i>Ibidem</i> , 16 , 262; 1897. — <i>Ibidem</i> , 16 , 274; 1897	131
MALFITANO (G.). — Les matières amylacées étudiées à l'aide de nos connaissances sur l'état colloïdal. <i>C. R. Ac. des Sciences</i> , 143 , 400; 1906.....	2
MARTLAND (MARJORIE) et ROBISON (ROBERT). — Note on the Estimation of Phosphorus in Blood. <i>Biochem. Journal</i> , 18 , 765; 1924....	18
MAYER (ADOLF). — Ueber den Bedarf des Hefepilzes <i>Saccharomyces cerevisiae</i> an Aschenbestandtheilen. <i>Landwirtsch. Versuchsstationen</i> , 11 , 443; 1869.....	9
MAYER (ADOLF). — Untersuchungen über die alkoholische Gärung. — Heidelberg, 1869.....	9
MAYER (ADOLF). — Lehrbuch der Agrikulturchemie. II Teil : Die Gärungschemie. — 4 ^e Aufl., Heidelberg, 1895.....	10
MAYER (ADOLF). — Das Gesetz des Minimums. <i>Landwirtsch. Versuchsstationen</i> , 78 , 115; 1912.....	8
MICHAELIS (L.) et GYEMANT (A.). — Die Bestimmung der Wasserstoffzahl durch Indikatoren. <i>Biochem. Zeitschr.</i> , 109 , 166; 1920....	23
MICHAELIS (L.) et KRÜGER (R.). — Weitere Ausarbeitung der Indikatorenmethode ohne Puffer. <i>Biochem. Zeitschr.</i> , 119 , 307; 1921....	23
MITSCHERLICH (E. A.). — Das Gesetz des Minimums und das Gesetz	

	Pages
des abnehmenden Bodenertrages. <i>Landwirtsch. Jahrbücher</i> , 38 , 537 ; 1909	8
NEUMANN (A.). — Einfache Veraschungsmethode (Säuregemisch-Veraschung). Alkalimetrische Bestimmung der Phosphorsäure unter Benutzung der Säuregemisch-Veraschung. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 37 , 129 ; 1902.....	18
NEUMANN (A.). — Nachträge zur « Säuregemisch-Veraschung ». <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 43 , 35 ; 1904.....	18
NICOLLE (M.) et ALILAIRE (E.). — Note sur la production en grand des corps bactériens et sur leur composition chimique. <i>Ann. Institut Pasteur</i> , 23 , 547 ; 1909.....	107
OPPENHEIMER (C.). — Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere. 2 ^e Aufl., Bd II. Jena, 1924. Article de C. NEUBERG, p. 442	11
PALISSY (BERNARD). — Œuvres revues sur les exemplaires de la Bibliothèque du Roi, par Foujas de Saint-Fond et Gobet. — In-4 ^o , Paris, Ruault, 1777.....	4
PASTEUR (L.). — Mémoire sur la fermentation appelée lactique. <i>Ann. de Chim. et Phys.</i> , (3 ^e série), 52 , 404 ; 1858. — Voir : Œuvres de Pasteur réunies par Pasteur Vallery-Radot, t. II, p. 3. Masson et C ^{ie} , éditeurs, Paris, 1922.....	74
Note sur le sucre de lait. Lettre de M. PASTEUR à M. BIOT. <i>C. R. Ac. des Sciences</i> , 42 , 347 ; 1856. — Voir : Œuvres de Pasteur réunies par Pasteur Vallery-Radot, t. I, p. 280. Masson et C ^{ie} , éditeurs, Paris, 1922	129
PLIMMER (R. H. A.). — The Metabolism of organic Phosphorus Compounds. Their Hydrolysis by the Action of Enzymes. <i>Biochem. Journal</i> , 7 , 43 ; 1913.....	122
PREGI (FRITZ). — Die quantitative organische Mikroanalyse. — Berlin, 1923	23
RAULIN (J.). — Etudes chimiques sur la végétation. — Paris, 1870. Nouvelle édition conforme à l'original. Paris, Masson et C ^{ie} , éditeurs, 1905	8
RIESSER (O.). — Ueber die Phosphorsäureabspaltung in überlebender Leber und ihre Beeinflussung durch Pharmaka. <i>Zeitschr. f. physiol. Chem.</i> , 161 , 149 ; 1926.....	123
ROBISON (R.). — The possible significance of Hexosephosphoric Esters in Ossification. <i>Biochem. Journal</i> , 17 , 286 ; 1923	18 et 123
ROBISON (R.) et SOAMES (K. M.). — The possible Significance of Hexosephosphoric Esters in Ossification. Part II. <i>Biochem. Journal</i> , 18 , 740 ; 1924	123
SAMEC (M.). — Studien über Pflanzenkolloide. <i>Kolloidchem. Beihefte</i> , 4 , 132 ; 1912/13. — <i>Ibidem</i> , 5 , 141 ; 1913/14. — <i>Ibidem</i> , 6 , 23 ; 1914.	2
SCHOEN (M.). — Le problème des fermentations, les faits et les hypothèses. — Monographies de l'Institut Pasteur. Paris, 1926 ...	11 et 125
SCHOORL (N.). — Voir : Chemisch Jaarboekje, Vol. II, p. 136 (D. B. Centen, éditeur, Amsterdam), 1920. — Voir aussi : <i>Chemisch Weekblad</i> , 9 , 687 ; 1912. — <i>Ibidem</i> , 12 , 482 ; 1915.....	21
SLATOR (A.). — Studies in Fermentation. <i>Journ. chem. Soc.</i> , 93 , 217 ; 1908	130

	Pages
SÖHNGEN (N. L.) et COOLHAAS (C.). — The Fermentation of Galactose by <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . <i>Journ. of Bacteriol.</i> , 9 , 131 ; 1924....	130
SÖHNGEN (N. L.) et COOLHAAS (C.). — Die Galaktosegärung durch <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . <i>Centralbl. f. Bakteriologie</i> . (II Abt.), 66 , 5 ; 1926	130
SPRENGEL (CARL). — Lehre vom Dünger. — 1839.....	8
STANFORD (R. V.) et WHEATLY (A. H. M.). — The Estimation of Phosphorus Compounds in Blood. <i>Biochem. Journal</i> , 19 , 697 ; 1925....	19
STEWART (C. P.) et ARCHIBALD (W.). — The Estimation of Phosphorus and Magnesium. <i>Biochem. Journal</i> , 19 , 484 ; 1925.....	19
STONE (W. E.) et TOLLENS (B.). — Gährungsversuche mit Galactose, Arabinose, Sorbose und anderen Zuckerarten. <i>Liebigs Annalen d. Chemie</i> , 249 , 257 ; 1888.....	129
TAIT (A.) et FLETCHER (L.). — The Development and Nutrition of Yeast. <i>Journ. Inst. of Brewing</i> , 28 , 597 ; 1922. — <i>Ibidem</i> , 29 , 509 ; 1923	105
TAKAHASHI (Y.). — Ueber die Spaltung von Hexose-di-phosphorsäure durch verschiedene Organe. <i>Biochem. Zeitschr.</i> , 145 , 178 ; 1924....	123
THUDICHUM (J. LUDWIG W.). — Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere. — Tübingen, 1901.....	1
TOLLENS (B.) et STONE (W. E.). — Ueber die Gährung der Galactose. <i>Ber. d. deutsch. chem. Ges.</i> , 21 , 1572 ; 1888.....	129
TOMITA (M.). — Zur Kenntnis der Phosphatasen. <i>Biochem. Zeitschr.</i> , 131 , 170 ; 1922.....	123
TREADWELL (F. P.). — Kurzes Lehrbuch der analytischen Chemie. Bd II, 7 ^e Aufl., 1917.....	29
WRÓBLEWSKI (A.). — Ueber den BUCHNER'schen Hefepresssaft. <i>Journ. f. prakt. Chem.</i> , (2), 64 , 1 ; 1901	10

TABLE DES MATIÈRES

PREMIÈRE THÈSE

RECHERCHES SUR LE RÔLE DU PHOSPHORE DANS LA VIE DE LA LEVURE ET DANS LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

PREMIÈRE PARTIE

	Pages
CHAPITRE I. — <i>Introduction</i>	1
CHAPITRE II. — <i>Les méthodes de dosage</i>	15
I. — Le dosage du phosphore.....	15
II. — Le dosage du sucre réducteur.....	21
III. — La détermination du <i>pH</i>	23
IV. — Le dosage de l'azote	23

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

A. — Le rôle du phosphore dans le développement de la levure

CHAPITRE III. — <i>Le rôle du phosphore dans des milieux artificiels, contenant du sucre</i>	27
CHAPITRE IV. — <i>Le rôle du phosphore dans des milieux naturels, contenant du sucre</i>	38
I. — Levure J de distillerie.....	38
II. — Levure Logos, <i>Schizosaccharomyces Pombe</i> et levure Delft I.....	46
III. — Levure de Champagne Cramant et levure Delft I.....	54
Elion.	10

	Pages
IV. — Levure Springer, levure XII et levure Delft I.....	60
V. — Levure Delft II et levure Delft III.....	65
VI. — Levure Delft I, levure Delft II et levure Delft III.....	69
CHAPITRE V. — <i>Influence de l'oxygène.....</i>	76
CHAPITRE VI. — <i>Cultures dans des vases de différents modèles. Influence de l'augmentation de la quantité du phosphore.....</i>	81
CHAPITRE VII. — <i>Cultures dans des vases de différents modèles. Influence de l'augmentation de la quantité de l'azote....</i>	88
CHAPITRE VIII. — <i>Influence de l'augmentation de la quantité de l'oxygène par aération.....</i>	99
I. — Levure J de distillerie.....	100
II. — Levure Delft II.....	102
 B. — Le rôle du phosphore dans la fermentation par la levure vivante	
CHAPITRE IX. — <i>Fermentation par la levure en quantité élevée.....</i>	106
I. — Levure de Cramant.....	106
II. — Levure Delft I.....	109
 C. — Le rôle du phosphore dans la fermentation par des préparations de levure	
CHAPITRE X. — <i>La levure dépouillée de sa membrane.....</i>	113
CHAPITRE XI. — <i>La phosphorylisation et les glucides non fermentescibles.....</i>	124
CONCLUSIONS.....	135
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	139
TABLE DES MATIÈRES.....	145

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

LA VISCOSITÉ DES PROTÉINES

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 14 novembre 1927

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Ch. MAURAIN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE
